

Untersuchungen über
Ausmaß und Kinetik der Erholung
vom subletalen Strahlenschaden in einem
Mammakarzinom der Maus

Wolfgang Felix Mayerhausen

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554619_0091

Aus dem Strahlenbiologischen Institut
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. G. Riethmüller

UNTERSUCHUNGEN ÜBER AUSMASS UND KINETIK DER ERHOLUNG
VOM SUBLETALEN STRAHLENSCHADEN IN EINEM
MAMMAKARZINOM DER MAUS

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Wolfgang Felix Mayerhausen
Augsburg

München 1987

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. K.-R. Trott

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Riethmüller

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. J. Kummermehr

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 23.07.1987

Für die Überlassung des Themas dieser Dissertation danke ich Herrn Prof. Dr. K.-R. Trott.

Herrn Dr. J. Kummermehr bin ich zu größtem Dank verpflichtet für die intensive wissenschaftliche Betreuung und die Gelegenheit zu ausführlicher Diskussion bei Planung, Durchführung und schriftlicher Abfassung dieser Arbeit.

Herrn Dr. R. Guttenberger danke ich für die Beratung bei mathematisch-statistischen Problemen, ebenso danke ich den Assistentinnen der Arbeitsgruppe für die freundlicherweise gewährte Anleitung bei der praktischen Versuchsdurchführung.

Die Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung Neuherberg hat in großzügiger Weise durch die Bereitstellung der Tiere und des Versuchsmaterials die Ausführung der Experimente ermöglicht.

Gewidmet meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	3
2.1.	Tiermaterial	
2.2.	Tumorsystem	3
2.3.	Transplantation des Tumors	3
2.4.	Quantifizierung des Tumorwachstums	5
2.5.	Bestrahlung der Tumoren und Dosimetrie	5
2.6.	Versuchsaufbau	7
2.7.	Dokumentation der Tumorstrahlenwirkung	11
3.	Ergebnisse	13
3.1.	Histologischer Tumoraufbau	13
3.2.	Größenwachstum der unbehandelten Tumoren	14
3.3.	Temporäre Ischämie und Tumorwachstum	15
3.4.	Ergebnisse des Vorversuchs	17
3.4.1.	Wachstumsverhalten	17
3.4.2.	Quantifizierung der Wachstumsverzögerung	20
3.5.	Ergebnisse des Fraktionierungsversuchs	24
3.5.1.	Wachstumsverhalten	24
3.5.2.	Quantifizierung der Wachstumsverzögerung	28
3.6.	Kinetik der Erholung bei fraktionierter Bestrahlung	31
3.6.1.	Wachstumsverhalten	32
3.6.2.	Quantifizierung der Wachstumsverzögerung	35
4.	Diskussion	38
4.1.	Biologische Grundlagen der Fraktionierung	38
4.2.	Kritische Betrachtung der Tumorwachstumsver- zögerung als Maß der zellulären Strahlenwirkung	40

4.3.	Zelluläre Grundlagen der Split-dose Recovery	45
4.4.	Erholte Dosis pro Fraktion und Fractional Recovery.	47
4.5.	Linear-quadratisches Modell und Fraktionierungseffekt	50
4.6.	Kinetik der Erholung	59
5.	Zusammenfassung	64
6.	Literaturverzeichnis	66
7.	Lebenslauf	74

1. EINLEITUNG

Die Anfänge der Strahlentherapie reichen zurück bis zum Ende des letzten Jahrhunderts, als mit der Entdeckung der Radioaktivität, der Röntgenstrahlung und des Radiums die Grundlagen für eine therapeutische Nutzung geschaffen wurden. Doch schon bald nach der Anwendung dieser neuartigen Errungenschaften in der Behandlung gut- und bösartiger Erkrankungen stellte sich heraus, daß damit auch enorme Strahlenschäden im umliegenden Normalgewebe in Kauf zu nehmen waren, obgleich der Patient oftmals nicht von seiner Geschwulst geheilt werden konnte. Die Strahlentherapie der damaligen Zeit bestand häufig in der Anwendung einer massiven Einzeldosis, um den Tumor, vergleichbar dem chirurgischen Vorgehen, in einer Sitzung quasi auszuradieren.

Einer Gruppe von Wissenschaftlern der Curie Stiftung in Paris gelang es schließlich unter der Leitung von Claude Regaud und Henry Coutard, das Problem der unvermeidlichen Nebenwirkungen einer Lösung näherzubringen. Mit mehreren Experimenten in den Jahren 1919 bis 1927 wiesen sie nach, daß eine fraktionierte Bestrahlung die für das Erzielen verschiedener Gewebseffekte notwendige Dosis unterschiedlich erhöht (33). Dabei gingen sie vom Modell des Hodens aus als einem Gewebe mit hoher Zellumsatzrate, wie sie in ähnlicher Weise als schnelle und unbegrenzte Zellproliferation des Tumorgewebes zu beobachten ist. Eine Sterilisation des Kaninchenhodens durch perkutane Bestrahlung mit einer Einzeldosis hatte eine schwere Strahlennekrose der darüberliegenden Haut zur Folge. Bei einer Aufteilung der Gesamtdosis auf fünf Fraktionen erhöhte sich zwar die zur Sterilisierung notwendige Dosis, doch reagierte die Haut nunmehr deutlich geringer, nämlich nur in Form einer trockenen Strahlendermatitis. Folglich konnte man mit einer höheren Effektdosis bestrahlen, ohne übermäßige Komplikationen befürchten zu müssen.

Aus heutiger Sicht stellt das Samenepithel kein geeignetes Modell für das Fraktionierungsverhalten eines soliden Tumors dar. Zudem waren die Schlußfolgerungen über die biologischen Grundlagen des Fraktionierungseffektes falsch. Die Umsetzung der Versuchsergebnisse in die klinische Praxis der Tumorbehandlung beim Menschen revolutionierten jedoch die damalige Strahlentherapie.

Ab der zweiten Hälfte des Jahrhunderts öffnete sich der Blick für die biologische Strahlenwirkung in der Zelle. Die Untersuchung der reproduktiven Integrität der Zelle und die Dosisabhängigkeit ihrer Sterilisierung gewannen für das Verständnis der Wirkung auf den Tumor paradigmatische Bedeutung (32). Vom zellulären Effekt ausgehend konnten auch die Änderungen der geweblichen Strahlenempfindlichkeit, die sich mit einer fraktionierten Bestrahlung verbinden, auf verschiedene Einzelkomponenten zurückgeführt werden, nämlich Erholung, Repopulierung, Reoxygenierung und Redistribution (59). Hierbei spielt in der Praxis der Strahlentherapie sicher die Erholung eine besonders wichtige Rolle.

Das Schrifttum der letzten Jahre gibt einen guten Überblick über die erheblichen Differenzen in der Erholungsfähigkeit und der Erholungskinetik zwischen verschiedenen Normalgeweben (15, 45). Die Information hierüber scheint heute sogar breiter als über das Verhalten solider Tumoren, das bisher lediglich in einer Arbeit zusammenfassend dargestellt wurde (57).

Der Zweck der vorliegenden experimentellen Untersuchung ist daher die Erarbeitung weiterer Daten an einem vergleichsweise differenzierten Transplantattumor der Maus. Aus der kritischen Gegenüberstellung zu den Verhältnissen in Normalgeweben sollen Schlußfolgerungen für die Optimierung der fraktionierten Strahlentherapie genommen werden.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Tiermaterial

Alle Versuche wurden an spezifiziert-pathogenfreien weiblichen Mäusen vom Stamm C3H, Linie Neuherberg, durchgeführt. Die Tiere wurden mit Standardfutter Altromin^(R) (Fa. Altrogge, Lage) und Wasser ernährt und in einem voll klimatisierten Tierstall bei 24°C und einem Hell-Dunkel - Rhythmus von 12/12 h gehalten. Das Versuchsalter betrug 10 bis 12 Wochen, was einem durchschnittlichen Gewicht von $21 \pm 1g$ entsprach.

2.2. Tumorsystem

Der Tumor AT 55 wurde 15 Monate nach kurativer Bestrahlung eines transplantierten Fibrosarkoms, jedoch außerhalb des Bestrahlungsfeldes, als langsam wachsende Neubildung am Vorderbein einer C3H-Maus entdeckt. In dieser Lokalisation kommen auch spontane Karzinome der Milchleiste vor, jedoch muß zunächst davon ausgegangen werden, daß es sich hier um einen durch die nicht unerhebliche Streustrahlung verursachten strahleninduzierten Tumor handelt. Der Schnellschnitt zeigte ein feinknotiges Adenokarzinom. In allen folgenden Passagen wurde der Tumor stets auf C3H-Mäuse, also auf den isogenen Tierstamm übertragen.

2.3. Transplantation des Tumors

Für die verwendeten Spendertumoren galt als Hauptkriterium, daß ihre Wachstumsgeschwindigkeit einem durchschnittlichen Wert der jeweiligen Passage entsprach. Die Tumormasse des Spenders lag bei Transplantation zwischen 500 und 800 mg. Nach raschem Abtöten des Spendertieres



durch zervikale Dislokation wurde der subkutan gelegene Tumorknoten entnommen und in 0,9%ige NaCl-Lösung gelegt. Mit Schere und Pinzette wurde umliegendes Gewebe abpräpariert. Der Tumor wurde mit einer Rasierklinge in Würfel von 1 mm Kantenlänge zerlegt, und die so gewonnen Partikel in frische NaCl-Lösung gebracht, um Zelldebris und noch vorhandene Blutreste zu entfernen.

Am Empfängertier wurde das Fell über der dorsolateralen Thoraxregion geschoren und das Tier durch intraperitoneale Injektion von 0,15 ml 2%iger Na-Hexobarbitallösung (Evi-pan^(R)) narkotisiert. Narkose mit vollständiger Muskelrelaxation trat daraufhin nach ca. 3 Minuten ein. Im geschorenen Areal wurde die Haut nach Desinfektion mit 70%igem Alkohol durch Scherenschlag eröffnet und mit Hilfe eines Trokars ein Tumorkwürfel subkutan kaudal der Skapula deponiert.

Dieser Transplantationssitus hat mehrere Vorteile:

- Der Tumor läßt sich mit einem tangentialen Strahlenbündel ohne Einbeziehung von allzu viel Lungen- bzw. Lebergewebe bestrahlen.
- Die Thoraxwand erleichtert als harte Unterlage die externe Größenmessung.
- Auf Grund der guten Verschieblichkeit im subkutanen Raum kann die Tumorbasis zur Schaffung anoxischer (ischämischer) Zustände mit einer Klemme leicht umfaßt werden.

Nach der Transplantation erhielt jede Maus eine eindeutige Ohrmarkierung, die für die spätere individuelle Protokollierung notwendig war.

Nach dieser Methode wurden insgesamt 460 Tiere transplantiert. Die Angehrate lag bei 88 - 90%. Den Bestrahlungsversuchen wurden insgesamt wiederum knapp 70% dieser Tiere zugeführt, weil Tumoren mit extremen Wachstumseigenschaften aus Gründen der Standardisierung ausgeschieden wurden.

2.4. Quantifizierung des Tumorwachstums

Die in den Bestrahlungsversuchen verwendeten Tumoren waren durchschnittlich 3 Wochen nach Implantation palpabel und gelangten nach weiteren 1 bis 2 Wochen in den meßbaren Bereich (= 20 mg). Da die Volumenverdopplungszeit des zu untersuchenden Systems bei etwa 8 bis 10 Tagen lag, wurde jeden 6. bis 7. Tag eine Messung durchgeführt, um eine ausreichend engmaschige Überwachung zu erreichen. Als einfaches Meßgerät diente eine Plexiglasplatte mit Bohrungen im Durchmesserbereich 3 bis 15 mm. Jeder Bohrung entsprach dabei ein in früheren Kalibrierungen ermitteltes Tumorgewicht. Dieses Verfahren liefert bei einigermaßen regelmäßig gewachsenen, annähernd kugeligen Tumoren ausreichend genaue Meßwerte. Die notwendige Reproduzierbarkeit der Messung, die im subjektiven Einpassen eines Tumors in ein Bohrloch besteht, kann erfahrungsgemäß rasch erreicht werden (24, 56).

2.5. Bestrahlung der Tumoren und Dosimetrie

Die Tumoren wurden mit einer Röntgenanlage Isovolt 420 der Firma Seifert, Ahrensburg, bestrahlt. Das Gerät arbeitete mit einer Röhrenspannung von 300 kV und einem maximalen Röhrenstrom von 12 mA, wobei im Fokus-Haut-Abstand von 21 cm eine Dosisleistung von ca. 5 Gy/min erreicht wurde. Zur Filterung dienten 0,5 mm Cu und 1 mm Al.

Unter der Röntgenröhre wurde ein Karussell zur Aufnahme der Tiere zentriert. Es drehte sich einmal pro Minute mit alternierender Drehrichtung um 360°. Eventuell auftretende Dosisinhomogenitäten auf Grund des sog. Heel-Effektes, der durch die unterschiedliche Absorption der Bremsstrahlung in der schräg gestellten Anode zustande kommt, wurden so ausgeglichen. Den Abschluß des Karussells nach oben bildete eine 6 mm dicke Bleiplatte mit Längsschlitzen, die das Bestrahlungsfeld für 5 Tumoren und eine Ionisationskammer definierte.

Für die Bestrahlung wurde jedes Tier durch i.p. Injektion von ca. 0,16 ml einer 2%igen Na-Hexobarbitallösung (Evi-pan^(R)) narkotisiert. Nach Eintritt der Narkose konnten die Tumoren unter Verwendung von verschraubbaren Plastikzangen an ihrer Basis vorübergehend von der Blutzufuhr abgeklemmt und so in einen anoxischen Zustand überführt werden. Durch schnelle Fixierung dieser Plastikklemmen auf einem Plastikeinschub für das oben beschriebene Karussell konnten jeweils 5 Tiere ohne Zeitverlust positioniert werden. In Verbindung mit der Abdeckung war damit eine sichere und voll reproduzierbare Bestrahlung der Tumoren im tangentialen Strahlengang möglich. Um stets ausreichend anoxische Bedingungen zu schaffen, wurde der Beginn der Ischämiezeit auf mindestens 5 Minuten vor Bestrahlung gelegt.

Die eingestrahlte Dosis wurde in jeder Sitzung mit einem Simplexdosimeter (Firma Phywe, Freiburg) registriert. Die Ionisationskammer des Systems befand sich hierbei in gleicher Position wie die zu bestrahlenden Tumoren im Strahlengang. Das Erreichen des vorgewählten Dosiswertes wurde durch ein akustisches Signal angezeigt, womit gleichzeitig ein automatisches Abschalten der Strahlenquelle verbunden war.

Im Anschluß an die Bestrahlung wurden die typischen Strahlenfolgen an der Haut beobachtet (12):

Etwa ein bis zwei Wochen post radiationem traten zunächst Erytheme mit Ödemen und Haarausfall sowie trockene Schuppung auf. Nach weiteren drei bis fünf Wochen setzte in Abhängigkeit von der Dosis eine feuchte Radiodermatitis ein, die in eine Reepithelialisierung mündete und damit das Ende der akuten Strahlenreaktion darstellte. Als Reaktion auf höhere Dosen stellten sich im weiteren Verlauf Pigmentverlust (weiße Wiederbehaarung) und Hautatrophie ein, manchmal auch eine indurierende Fibrose.

Diese Hautveränderungen erschwerten bei einigen Tieren das Messen des Tumors im weiteren Verlauf des Experimentes. Die in einem sehr geringen Prozentsatz der Fälle, vorwiegend nach höheren Dosen, auftretenden Ulzerationen und Wachstumsveränderungen des Rezidivs hin zu flächenhafter Ausbreitung zwangen auf Grund der Meßerschwerenisse dazu, die entsprechenden Tiere aus dem Versuch herauszunehmen.

2.6. Versuchsaufbau

Folgende Versuchsgruppen wurden gebildet:

A: Unbestrahlte Kontrollgruppen zur Untersuchung des uneinflußten Tumorwachstums in fortlaufenden Passagen.

Passage 1	:	5 Tiere
Passage 2	:	5 Tiere
Passage 3	:	5 Tiere
Passage 4/I	:	10 Tiere
Passage 4/II	:	10 Tiere
Passage 5	:	8 Tiere
Passage 6	:	10 Tiere
Passage 7	:	9 Tiere
Passage 8	:	10 Tiere

B: Um den Abklemmeffekt auf den Tumor für die Zeit vor, während und nach der Bestrahlung zu untersuchen, wurde eine unbestrahlte Kontrollgruppe von 8 Tieren gebildet, die dreimal einer Ischämiezeit von jeweils ca. 15 Minuten und zwar im Abstand von 4 Stunden unterzogen wurde. Diese Versuchstiere entstammten der Passage 5 und wurden mit unbehandelten Tumoren derselben Passage verglichen.

C: Vorversuch (Passage 3)

Zur Ermittlung des verwertbaren Dosisbereichs wurden Bestrahlungen mit Einzeldosen und 4 Fraktionen unter anoxischen Bedingungen durchgeführt, wobei das Intervall zwischen den einzelnen Fraktionen 4 Stunden betrug.

Anzahl der Tiere	Bestrahlungsdosis	
5	10	Gy Einzeldosis
5	20	Gy Einzeldosis
5	30	Gy Einzeldosis
5	40	Gy Einzeldosis
5	50	Gy Einzeldosis
5	4 x 3,5	Gy
5	4 x 8	Gy
5	4 x 13	Gy
5	4 x 15	Gy
5	4 x 17	Gy

D: Erholung vom subletalen Strahlenschaden (Passage 4/I)

Anzahl der Tiere	Bestrahlungsmodus
10	25 Gy Einzeldosis
10	30 Gy Einzeldosis
10	35 Gy Einzeldosis
9	40 Gy Einzeldosis
10	44 Gy Einzeldosis
10	47 Gy Einzeldosis
10	2 x 15 Gy/4 h
10	2 x 22 Gy/4 h
10	2 x 27,5 Gy/4 h
10	3 x 11,5 Gy/8 h
10	3 x 16,5 Gy/8 h
10	3 x 20,5 Gy/8 h
10	8 x 5 Gy/28 h
10	8 x 7,5 Gy/28 h
10	8 x 10 Gy/28 h

Alle Tumoren wurden unter anoxischen Bedingungen bestrahlt. Das Zeitintervall für 2, 3 und 8 Fraktionen lag bei jeweils 4 Stunden. Die Angabe 3 x 11,5 Gy/8 h bezieht sich also auf den Gesamtzeitraum zwischen erster und dritter Fraktion. Bestrahlung mit 8 Fraktionen schloß eine Nacht ein, in der im 4-Stunden-Rhythmus kontinuierlich weiterbestrahlt wurde. Folglich erstreckte sich beim Bestrahlungsmodus 8 x 5 Gy/28 h der Behandlungszeitraum zwischen erster und achter Bestrahlung über ca. 28 Stunden.

E: Kinetik der Erholung vom subletalen Strahlenschaden in den Behandlungspausen zwischen 3 Fraktionen (Passage 5)

Anzahl der Tiere	Bestrahlungsmodus
8	25 Gy Einzeldosis
8	35 Gy Einzeldosis
8	44 Gy Einzeldosis
8	3 x 9,5 Gy/Intervall 45 min
8	3 x 13,5 Gy/Intervall 45 min
8	3 x 17,5 Gy/Intervall 45 min
8	3 x 11,5 Gy/Intervall 90 min
8	3 x 16,0 Gy/Intervall 90 min
8	3 x 20,0 Gy/Intervall 90 min
8	3 x 14,0 Gy/Intervall 4 h
8	3 x 19,0 Gy/Intervall 4 h
9	3 x 23,0 Gy/Intervall 4 h

Sämtliche Bestrahlungen erfolgten auch hier unter anoxischen Bedingungen.

Darüberhinaus wurden 3 Versuchsgruppen mit je 8 Tieren gebildet, die 3 Fraktionen zu 14, 19 oder 23 Gy in ebenfalls vierstündigem Abstand erhielten, deren Tumoren aber zusätzlich am Tage vor der ersten Fraktion dreimal im Abstand von 4 Stunden für jeweils 15 Minuten abgeklemmt wurden.

2.7. Dokumentation der Tumorstrahlenwirkung

Die Messung der Tumorgröße erfolgte post radiationem wieder in regelmäßigen Intervallen, wobei sich wegen des auffallend langsamen Rezidivwachstums wöchentliche Abstände als vollkommen ausreichend erwiesen. Die Verlaufskontrollen erstreckten sich über einen Zeitraum zwischen 4 Wochen und 5 Monaten und wurden beendet, wenn jeweils etwa die zehnfache Ausgangsgröße erreicht war. Eine Störung des Allgemeinzustandes der Versuchstiere war bei dieser Tumormasse noch nicht ersichtlich.

Von jeder Dosisgruppe wurde eine Graphik mit den individuellen Tumorwachstumskurven erstellt. Hierfür wurde eine halblogarithmische Darstellung der auf die Behandlungsgröße (= 100%) normierten Tumormasse gegen die Zeit nach Bestrahlung gewählt. Als Behandlungsbeginn (Tag 0) galt der Tag der ersten Behandlung. In den Kontrollgruppen war der Tag 0 durch das Erreichen einer Größe zwischen 80 und 150 mg definiert, wobei die Größenverteilung ähnlich wie in den Versuchsgruppen randomisiert war.

Die Wachstumskurven wurden für jede Dosisgruppe durch eine Kombination folgender Verfahren zu Mittelwertskurven zusammengefaßt (53):

- a) Darstellung des geometrischen Mittelwertes des Gewichts als Funktion der Zeit, um in der ersten Zeit nach Bestrahlung den Gewichtsverlauf, der gerade hier großen Fluktuationen unterworfen war, zu erfassen.
- b) Bestimmung des geometrischen Mittelwertes der Latenzzeit bis zum Erreichen vorgegebener Tumorgrößen. Dieses Verfahren impliziert Stetigkeit im Wachstumsverhalten, um eine eindeutige Zuordnung von Tumorgröße und Wachstumsverzögerung zu gewährleisten.

Der Vorteil dieser Methode besteht darin, daß die Mittelwerte und ihr mittlerer Fehler (Standard Error of the Mean, SEM) gleichzeitig die als Wachstumsverzögerung bezeichnete Meßgröße ergeben. Zudem gibt diese Darstellung die mittlere Neigung der Wachstumskurven unabhängig von der zeitlichen Spreizung der Rezidive korrekt wieder.

Dieses Vorgehen gestattet es also, das Wachstumsverhalten verschiedener Dosisgruppen in einer Abbildung zu vergleichen (53).

3. ERGEBNISSE

3.1. Histologischer Tumoraufbau

In diesem Kapitel soll eine kurze histologische Charakterisierung des Tumorsystems AT 55 erfolgen.

Die exzidierten Tumoren wurden in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Bei der histologischen Betrachtung bietet sich das Bild eines Tumors, der sich überwiegend aus epithelialen Zellverbänden, durchsetzt mit zystischen Anteilen, und Stroma zusammensetzt. Die Zellkerne zeigen sich relativ einheitlich klein und gleichmäßig gefärbt. Die Tumorzellen sind eher klein, die Kern-Plasma-Relation ist zugunsten der Kerne verschoben. Die zu beobachtende Mitoserate ist nur gering.

Der im Bereich der vorderen Milchleiste an der C3H-Maus entstandene Tumor ist bezüglich seiner teils glandulären Differenzierung als Adenokarzinom der Mamma zu charakterisieren, das auch umfangreiche solide Anteile besitzt.

Mit zunehmender Passagierung imponiert eine wachsende Differenzierung im Sinne eines größer werdenden Anteiles der drüsigen Zellverbände. Es kommt also nicht zu vermehrter Anaplasie, wie dies in anderen Tumoren im Zuge serieller Transplantation häufig auftritt (36). Auch die beim Primärtumor beobachtete gering ausgeprägte Polymorphie verstärkt sich bei weiterer Passagierung nicht.

3.2. Größenwachstum der unbehandelten Tumoren (Versuch A)

Untersucht wurden die Tumorpassagen 1 bis 8. Bei allen hier aufgeführten Fällen handelt es sich um unbestrahlte Tumoren; spontane Rückbildungstendenz wurde nicht beobachtet.

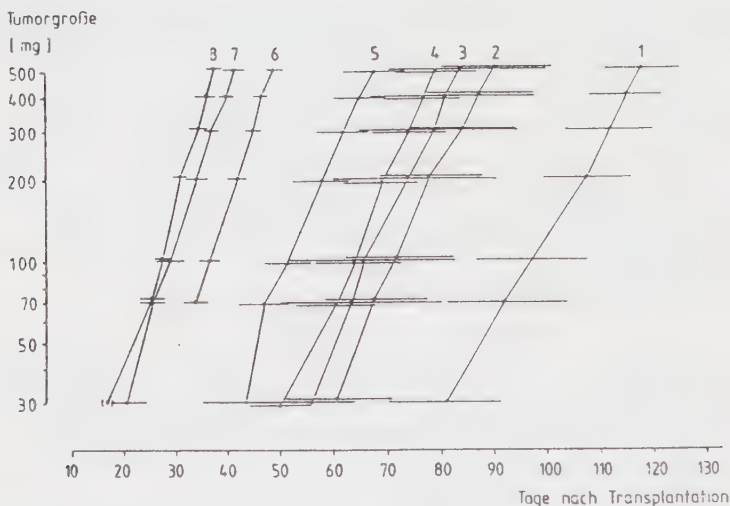


Abb. 1: Gemittelte Wachstumskurven von unbestrahlten Tumoren aus den Passagen 1 bis 8. Angabe der Passage an den Kurven.

Abbildung 1 verschafft anhand von Mittelwertskurven einen Überblick über das Wachstumsverhalten unbehandelter Tumoren. Aus den Kurven ist ersichtlich, daß mit steigenden Passagezahlen die Latenzzeit bis zum Erreichen von 100 mg Tumormasse nahezu stetig abnimmt. Weniger eindrucksvoll, aber ebenfalls nachweisbar, ist eine durchschnittliche Abnahme der Wachstumsrate (vergleiche hierzu auch Tabelle 1). Gleichzeitig weisen die bei zunehmender Passagierung abnehmenden Streuungen auf eine steigende Synchronisation des Tumorwachstums hin.

Die genauen Werte für Latenzzeit und Verdopplungszeit sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Passage	Latenzzeit (T 100)	Verdopplungszeit (T100/200)
1	97,1 (86,7-108,8)	9,2 (7,0-12,2)
2	66,6 (58,4- 75,9)	8,6 (7,5- 9,6)
3	72,1 (63,0- 82,6)	6,4 (5,5- 7,5)
4	63,8 (56,1- 72,5)	6,5 (5,7- 7,3)
5	51,3 (46,5- 56,6)	7,6 (6,7- 8,6)
6	35,6 (33,6- 37,7)	6,0 (5,2- 6,9)
7	29,6 (27,1- 32,2)	5,8 (5,3- 6,4)
8	29,3 (26,8- 32,2)	4,4 (4,1- 4,7)

Tab. 1: Latenzzeit bis zum Erreichen von 100 mg Tumormasse (T 100) und Verdopplungszeit von 100 auf 200 mg (T 100/200) für unbehandelte Tumoren der Passagen 1 bis 8. Die Werte geben jeweils den geometrischen Mittelwert in Tagen ($\pm$ SEM) an.

3.3. Temporäre Ischämie und Tumorwachstum (Versuch B)

Wie unter 2.7. beschrieben, wurde der Einfluß des Abklemmens und der daraus resultierenden Anoxie auf das Wachstumsverhalten der Tumoren untersucht. Um eventuelle Folgen für das Tumorwachstum darzustellen, wurden zwei parallele Versuchsgruppen aus der Passage 5 zu jeweils 8 Tieren gebildet. Die Tiere der Gruppe 1 blieben unbehandelt, bei den Tieren der Gruppe 2 wurde der Tumor dreimal im Abstand von 4 Stunden (in Hexobarbitalnarkose) abgeklemmt. Zum Behandlungszeitpunkt betrug die zwischen der unbehandelten und abgeklemmten Gruppe randomisierte Tumorgroße zwischen 80 und 150 mg, was der Größe der in den übrigen Versuchen bestrahlten Tumoren entsprach.

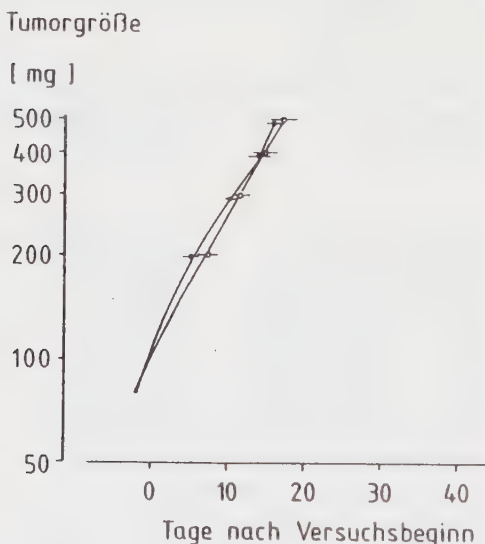


Abb. 2: Normierte mittlere Wachstumskurve von unbehandelten Tumoren (o) bzw. nach dreimaligem Abklemmen für 15 Minuten im Abstand von 4 Stunden (●).

Aus Abbildung 2 läßt sich ablesen, daß die Tumorverdopplungszeit $T_{100/200}$ für die unbehandelte Gruppe 1 bei 7,6 (6,7 - 8,6) Tagen lag. Zu einer Vervierfachung des Tumorgewichtes $T_{100/400}$ war bei Gruppe 1 ein Zeitraum von 15,0 (13,6 - 16,6) Tagen und bei Gruppe 2 von 14,3 (13,0 - 15,7) Tagen notwendig. Ein signifikanter Einfluß der Abklemmung und der Anoxie bzw. der wiederholten i.p. Injektion von Hexobarbital läßt sich somit ausschließen.

Thematisch in die gleiche Richtung geht ein weiterer Versuch, der in 2.6. unter dem Versuch über die Erholungskinetik aufgeführt ist. Er behandelt den eventuellen Einfluß von 3 Ischämieperioden, die zusätzlich zu 3 anoxischen Bestrahlungsfractionen gegeben wurden, mit der Fra-

gestellung, ob eventuell bei höherer Zahl von Bestrahlungsfraktionen durch das verschiednen häufige Abklemmen ein Versuchseffekt induziert wird.

Die Ergebnisse werden im Detail in Abschnitt 3.6.1 besprochen. Vorwegnehmend kann festgestellt werden, daß auch hierbei ein signifikanter Effekt der zusätzlichen Abklemmung nicht gesehen wurde.

3.4. Ergebnisse des Vorversuchs (Versuch C)

Die Strahlenreaktion des Tumorsystems AT 55 wird in dieser Arbeit erstmalig untersucht. Dem eigentlichen Hauptversuch wurde daher ein auf Einzeldosen und vierfach fraktionierte Dosen begrenzter Vorversuch vorangestellt. Er sollte einen Überblick über das Wachstumsverhalten des bestrahlten Tumors, den verwendbaren Dosisbereich und den Effekt einer Fraktionierung geben.

Zu diesem Zweck wurden 2 Versuchsgruppen aufgestellt. Die eine wurde mit Einzeldosen zwischen 10 und 50 Gy, die andere mit 4 Fraktionen im Abstand von jeweils 4 Stunden in der Größenordnung von $4 \times 3,5$ Gy bis 4×17 Gy behandelt. Die Meßwerte jeder Dosisgruppe wurden, wie unter 2.8. beschrieben, graphisch dargestellt.

3.4.1. Wachstumsverhalten

Abbildung 3 zeigt die gemittelten Wachstumskurven von Tumoren, die unter anoxischen Verhältnissen mit Einzeldosen zwischen 10 und 50 Gy bestrahlt und bis zum Erreichen der mindestens fünffachen Behandlungsgröße verfolgt wurden.

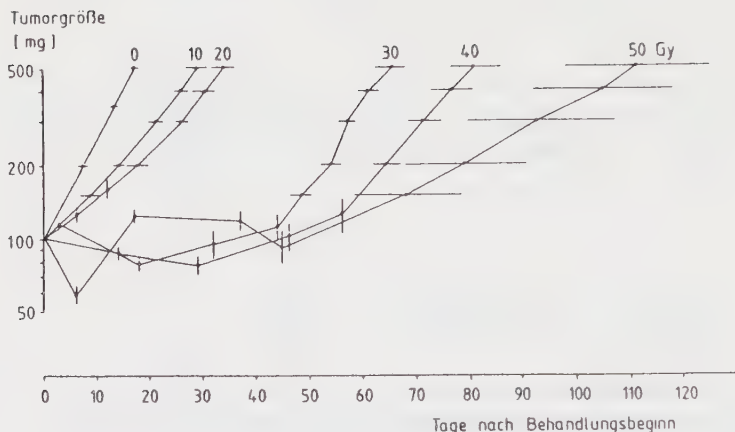


Abb. 3: Gemittelte Wachstumskurven nach Einzeldosen. Dosisangaben an den Kurven.

Wie aus der Abbildung ersichtlich, ist das Wachstumsverhalten dosisabhängig. Die Wachstumsgeschwindigkeit der mit 10 bzw. 20 Gy behandelten Tumoren nahm zunächst ab, näherte sich aber im Verlauf des Beobachtungszeitraumes wieder der Geschwindigkeit der unbestrahlten Kontrollgruppe. Die Dosisgruppen 30 und 40 Gy zeigten eine langsame Regression auf etwa 80% der Ausgangsgröße, die bis zur 6. bzw. 7. Woche wieder ausgeglichen war. Nach Überwinden dieser Phase war die Wachstumsrate durchaus der in den niedrigen Dosisgruppen vergleichbar. Nach Dosen von 50 Gy zeigte der Größenverlauf stärkere Fluktuationen und trat etwa um die 7. Woche in ein stetiges, annähernd exponentielles Wiederwachstum ein, allerdings mit deutlich verlangsamter Wachstumsgeschwindigkeit. Die Wachstumsgeschwindigkeit in der Rezidivphase läßt sich in erster Näherung durch die Verdopplungszeiten von 200 auf 400% der Ausgangsgröße veranschaulichen. Diese Werte sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

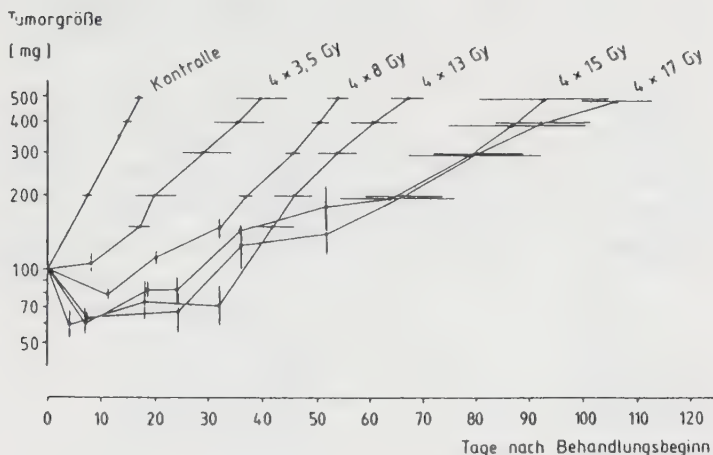


Abb. 4: Gemittelte Wachstumskurven nach Bestrahlung mit je 4 Fraktionen. Dosisangaben an den Kurven.

Abbildung 4 zeigt die Mittelwertkurven nach fraktionierter Bestrahlung mit Dosen zwischen $4 \times 3,5$ und 4×17 Gy.

Die Kurvenverläufe lassen mit Ausnahme der Dosisgruppe von $4 \times 3,5$ Gy eine Regression unter die Ausgangsgröße erkennen, die allerdings zwischen 4×13 Gy und 4×17 Gy keine dosisabhängigen Unterschiede aufweist. Sie besteht in einer Schrumpfung auf etwa 60 bis 80% der Behandlungsgröße und hält ca. 4 Wochen an. Das Wiederwachstum erfolgt in den Dosisgruppen bis 4×13 Gy mit annähernd derselben Wachstumsrate, in den höheren Dosisgruppen ist es deutlich verlangsamt.

Die in der nachfolgenden Tabelle 2 zusammengefaßten Werte der Verdopplungszeiten von 200 auf 400% der Ausgangsgröße ($T_{200/400}$) verdeutlichen auch hier die Rezidivwachstumsgeschwindigkeit der verschiedenen Dosisgruppen.

Dosis	T 200/400 (<u>±</u> SEM)
0 Gy (unbestrahlt)	7,2 (5,7- 9,1)
10 Gy	11,5 (10,6-12,4)
20 Gy	12,3 (10,9-13,9)
30 Gy	7,3 (6,6- 8,2)
40 Gy	11,6 (9,6-14,0)
50 Gy	25,3 (23,0-27,9)
4x 3,5 Gy	13,2 (10,5-16,5)
4x 8 Gy	13,6 (11,7-16,8)
4x 13 Gy	15,2 (13,4-17,2)
4x 15 Gy	21,1 (18,7-24,0)
4x 17 Gy	26,0 (23,2-29,1)

Tab.2: Verdopplungszeiten von 200 auf 400% der Ausgangsgröße nach Einzeldosen von 0 bis 50 Gy und nach 4 Fraktionen mit Dosen zwischen 3,5 und 17 Gy je Fraktion.

3.4.2. Quantifizierung der Wachstumsverzögerung

Der Verlauf der Wachstumskurven macht deutlich, daß die Regression zur Beschreibung einer dosisabhängigen Wirkung ungeeignet ist. Auch in der Rezidivwachstumsphase scheint die Ableitung einer Wachstumsverzögerung (d.h. der Zeit, die ein Tumor nach Bestrahlung bis zum Erreichen einer vorgegebenen Rezidivgröße braucht) noch wesentlich von der gewählten Rezidivgröße abhängig.

Die Analyse der Wachstumsverzögerung kann prinzipiell auf verschiedenen Niveaus erfolgen, deren Vor- und Nachteile in Abschnitt 3.5.2 diskutiert werden. Ein hoher Endpunkt, zum Beispiel bei 400 mg Tumorgröße (T 400), bietet den Vorteil, daß initiale Wachstumsschwankungen bzw. der eventuelle Einfluß des Residualvolumens nicht in die Messung

eingehen. Ein niedriger Endpunkt (T 200) schließt im Gegensatz dazu spätere Wachstumsretardierungen weitgehend aus.

Die folgende Tabelle listet die Werte der Wachstumsverzögerungen für alle einzeit- und fraktioniert bestrahlten Dosisgruppen auf. Die Werte bezeichnen den geometrischen Mittelwert mit dem dazugehörigen Standard Error of the Mean (SEM).

Bestrahlungsdosis anoxisch			Zeit zum Erreichen der zwei- fachen Behandlungsgröße (Tage)
1 x	0	Gy	7,5 (6,7- 8,6)
	10	Gy	14,3 (13,6-15,1)
	20	Gy	17,6 (15,5-20,1)
	30	Gy	54,1 (52,3-55,9)
	40	Gy	64,3 (61,5-67,1)
	50	Gy	79,0 (68,3-91,3)
4 x	3,5	Gy	19,8 (16,2-24,1)
	8	Gy	37,0 (35,4-38,6)
	13	Gy	45,9 (42,8-49,0)
	15	Gy	64,1 (53,9-76,1)
	17	Gy	66,1 (59,2-73,9)

Tab. 3: Wachstumsdauer bis zum Erreichen der doppelten Ausgangsgröße T 200 in Tagen (geometrischer Mittelwert ± mittlerer Fehler (SEM)).

Bestrahlungsdosis anoxisch			Zeit zum Erreichen der vier- fachen Behandlungsgröße (Tage)
1 x	0	Gy	15,0 (13,6- 16,5)
	10	Gy	26,0 (24,7- 27,3)
	20	Gy	30,1 (28,4- 31,9)
	30	Gy	61,1 (59,5- 62,8)
	40	Gy	76,5 (72,4- 80,9)
	50	Gy	104,8 (92,4-118,8)
4 x	3,5	Gy	35,5 (31,2- 40,6)
	8	Gy	50,3 (48,8- 51,9)
	13	Gy	60,6 (56,6- 64,9)
	15	Gy	86,9 (74,7-101,2)
	17	Gy	92,2 (83,5-101,9)

Tab. 4: Wachstumsdauer (T 400) bis zum Erreichen der vierfachen Ausgangsgröße in Tagen (geometrischer Mittelwert ± mittlerer Fehler (SEM)).

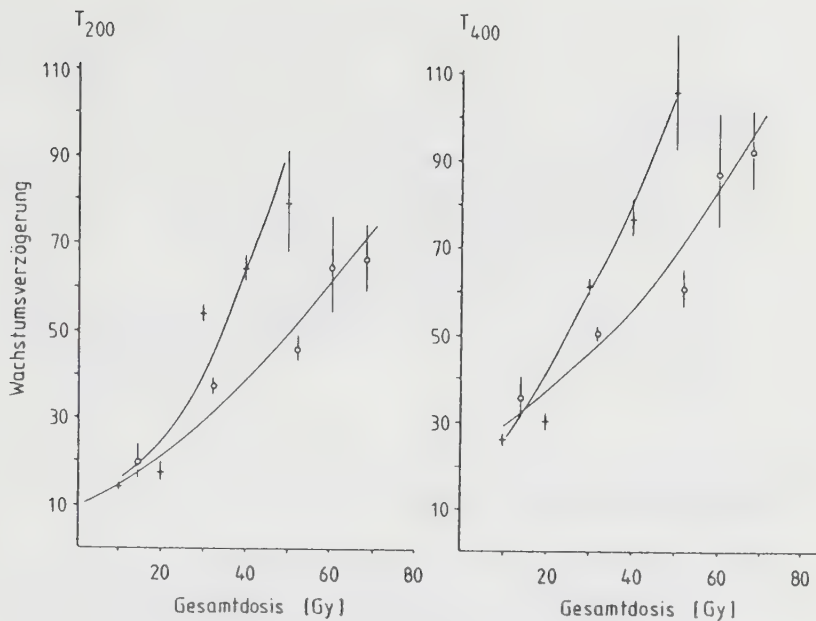


Abb. 5: Wachstumsdauer bis zum Erreichen der zweifachen bzw. vierfachen Behandlungsgröße (T 200 bzw. T 400) nach Einzeitbestrahlung (+) und Bestrahlung mit 4 Fraktionen (o).

Bei graphischer Auftragung der Wachstumsdauer in Tagen gegen die Gesamtdosis ergibt sich die Dosiseffektcurve der Wachstumsverzögerung. Man erhält für die Endpoints T 200 und T 400 die in Abbildung 5 gezeigte Darstellung.

Beide Kurven der linken Abbildung haben einen monophasischen, parabelähnlichen Verlauf und schneiden die Ordinate bei einem Wert, der der Verdopplungszeit des unbehandelten Tumors entspricht. Im niedrigeren Dosisbereich haben beide eine geringere Steigung, die jedoch mit wachsender Dosis zunimmt. Diese Zunahme ist in der Kurve der einzeitbestrahlten Tumoren deutlich größer als bei den fraktioniert behandelten, sodaß bei steigender Gesamtdosis die Kurven zunehmend auseinanderweichen.

Das rechte Teilbild weist im Prinzip dieselben Charakteristika auf. Hier ist aber zu bemerken, daß sich die Kurven unter Berücksichtigung des $4 \times 3,5$ Gy Wertes im unteren Dosisbereich überschneiden und daher nicht auf den gleichen Ausgangswert bei der Dosis 0 extrapoliert werden können. Dieses Phänomen läßt sich durch die höhere Anfälligkeit des Endpunkts T 400 für Veränderungen der Wachstumsrate (überproportionale Verlangsamung nach $4 \times 3,5$ Gy bzw, relativ geringe Verlangsamung nach 20 Gy) erklären und macht deutlich, daß die Wahl eines einzigen Endpunktes problematisch ist.

3.5. Ergebnisse des Fraktionierungsversuchs

Die Information aus dem Vorversuch diente dazu, den verwendbaren Dosisbereich sowie das Wachstumsverhalten nach fraktionierter Bestrahlung zu ermitteln. Im eigentlichen Erholungsversuch wurden auf Grund dieser Daten 4 Fraktionierungsschemata (Einzeldosen, 2, 3 und 8 Fraktionen) mit angestrebter isoeffektiver Dosierung aufgestellt.

3.5.1. Wachstumsverhalten

Die folgende Abbildung 6 zeigt die Mittelwertskurven der Dosisgruppen nach Einzelbestrahlung sowie die Verläufe für achtfache Fraktionierung.

Bis auf eine Ausnahme zeigen alle Dosisgruppen eine sofort einsetzende aber geringfügige Volumenabnahme auf 70 bis 80% des Behandlungsgewichtes. Die Dauer dieser Teilremissionen ist in diesem Versuch dosisabhängig, danach setzt ein langsamer Volumenanstieg ein. In dieser Phase weisen die einzelnen Tumoren noch Fluktuationen in ihrem Größenzustand auf; diese Tatsache zwang dazu, die entsprechenden Kurvenpunkte wieder als Gewichtsmittelwerte aufzuzeichnen.

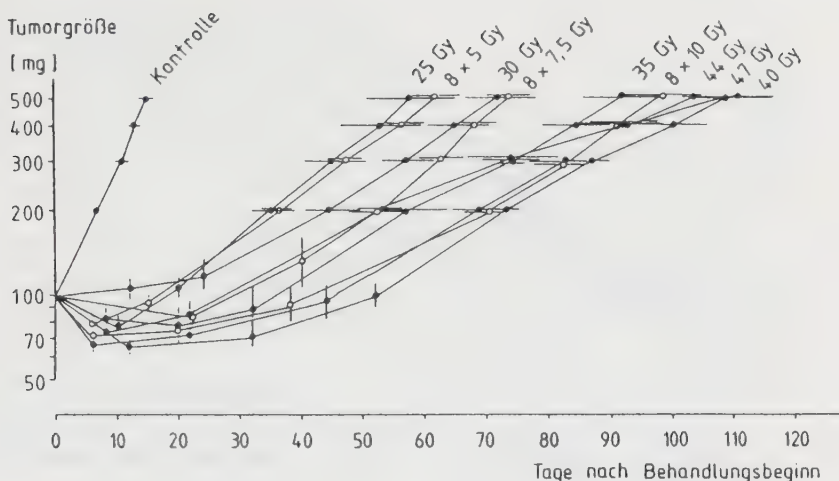


Abb. 6: Gemittelte Wachstumskurven für Bestrahlung mit Einzeldosen (●) oder mit 8 Fraktionen (○). Dosisangaben an den Kurven.

Ein stetiges Größenwachstum wird jedoch in allen Dosisgruppen beobachtet, wenn die Tumoren ihre doppelte Behandlungsgröße erreicht haben. Von diesem Größenniveau an kann die Kurve durch gemittelte Latenzzeiten dargestellt werden. Weiter ist auch hier wieder zu bemerken, daß die Neigung aller Wachstumskurven mit steigender Dosis flacher wird. Hierbei ist jedoch praktisch kein Unterschied zwischen den mit Einzeldosen und den mit 8 Fraktionen bestrahlten Dosisgruppen zu erkennen. Eine nicht erklärbare Ausnahme stellt lediglich die Kurve der Dosisgruppe 40 Gy dar, die extrem flach verläuft (siehe dazu auch Tab. 5).

Wenn man obige Graphik mit der Abbildung 3 vergleicht, die die entsprechenden Mittelwerte nach Einzeitbestrahlung des Vorversuchs beinhaltet, zeigt sich, daß die Kurven identischer Dosisgruppen ungefähr gleich liegen und die der dazwischenliegenden Dosisgruppen sich gut einfügen.

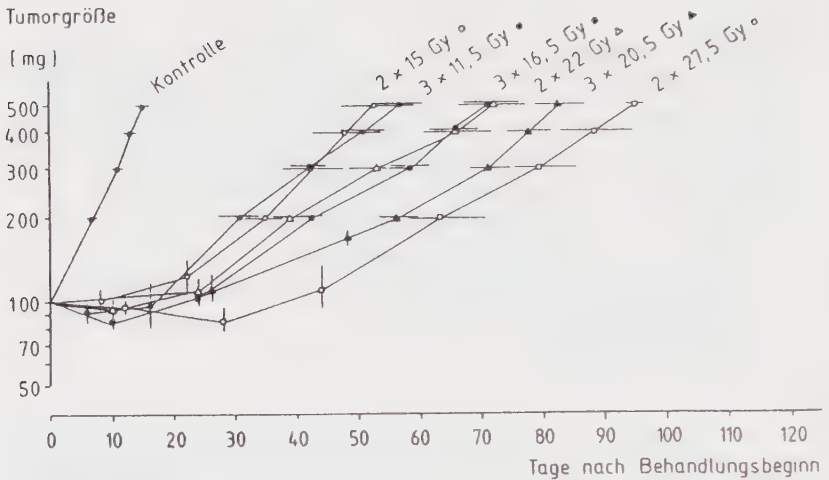


Abb. 7: Gemittelte Wachstumskurven nach fraktionierter Bestrahlung mit 2 (offen) bzw. 3 (geschlossen) Fraktionen. Dosisangaben an den Kurven.

Abbildung 7 gibt die Mittelwertskurven der Tumoren wieder, die im gleichen Experiment mit 2 bzw. 3 Fraktionen bestrahlt wurden.

Wie aus der Darstellung hervorgeht, war in diesen Protokollen die Regression noch weniger ausgeprägt. Im übrigen gilt auch hier, daß der Eintritt in das Wiederwachstum mit dosisabhängiger Latenzzeit erfolgt und die Wachstumsrate dosisabhängig, aber nicht fraktionierungsabhängig abnimmt.

Zur Verdeutlichung dieses Befundes sind die Verdopplungszeiten von 200 auf 400% des Ausgangsgewichtes ($T_{200/400}$) nach Bestrahlung mit 1 bis 8 Fraktionen in der Tabelle 5 aufgeführt.

Dosis			T 200/400 (+ SEM)
1 x	25	Gy	16,3 (13,3 - 19,9)
	30	Gy	18,9 (16,2 - 22,2)
	35	Gy	31,6 (27,7 - 36,0)
	40	Gy	37,8 (35,3 - 40,4)
	44	Gy	22,5 (21,0 - 24,2)
	47	Gy	26,5 (22,7 - 31,0)
2 x	15	Gy	11,6 (9,8 - 13,7)
	22	Gy	19,9 (16,2 - 14,6)
	27,5	Gy	20,3 (17,0 - 24,2)
3 x	11,5	Gy	18,6 (16,7 - 20,8)
	16,5	Gy	22,0 (19,0 - 25,6)
	20,5	Gy	21,0 (18,6 - 23,7)
8 x	5	Gy	19,6 (17,3 - 21,7)
	7,5	Gy	15,2 (13,4 - 17,3)
	10	Gy	24,0 (21,6 - 26,6)

Tab. 5: Verdopplungszeiten von 200 auf 400% des Behandlungsgewichtes nach Bestrahlung mit 1, 2, 3 und 8 Fraktionen.

3.5.2. Quantifizierung der Wachstumsverzögerung

Das beobachtete Rezidivwachstumsmuster nach subkurativer Bestrahlung ist bei der Ableitung einer dosisabhängigen Wachstumsverzögerung zu berücksichtigen. Die mangelhaft ausgeprägte Regressionsneigung des Tumors bringt es mit sich, daß die Wachstumsverzögerung erst bei Rezidivgrößen eindeutig definiert ist, die deutlich über der Behandlungsgröße liegen. Als niedrigster Endpoint kommt daher die Latenzzeit bis zum Erreichen der doppelten Behandlungsgröße in Betracht.

Möglicherweise ist auch dieser Endpoint noch durch das Residualvolumen des behandelten Tumors beeinflusst, während bei höheren Endpunkten zunehmend die dosisabhängige Verlangsamung der Wachstumsrate in die Latenzzeit mit eingeht. Aus diesem Grund ist zumindest der Vergleich von zwei verschiedenen Endpunkten angebracht. Die Dosisabhängigkeit der Wachstumsverzögerung wird nachfolgend für die Endpunkte T 200 und T 500, d.h. für die Zeit zum Erreichen der zwei- bzw. fünffachen Behandlungsgröße dargestellt.

Tabelle 6 gibt eine Aufstellung der berechneten Wachstumsverzögerungen für alle Fraktionierungsarten und Dosisgruppen.

Bestrahlungs-			T 200	T 500
dosis (anox.)			$\bar{x}$ (+ SEM)	$\bar{x}$ (+ SEM)
1 x	0	Gy	6,5 (5,7- 7,3)	14,7 (13,9- 15,6)
	25	Gy	35,2 (32,0-38,7)	57,4 (50,4- 65,4)
	30	Gy	44,6 (41,0-48,5)	72,2 (66,7- 78,2)
	35	Gy	51,9 (47,9-56,3)	91,8 (85,6- 98,5)
	40	Gy	56,8 (49,2-65,6)	110,7 (104,7-116,9)
	44	Gy	69,1 (64,2-74,3)	98,7 (92,2-105,6)
	47	Gy	73,2 (71,8-74,7)	109,1 (101,6-117,2)
2 x	15	Gy	34,9 (31,1-39,1)	52,6 (47,1- 58,7)
	22	Gy	38,9 (36,1-41,9)	71,9 (65,9- 78,5)
	27,5	Gy	63,4 (56,7-71,0)	95,0 (88,6-101,9)
3 x	11,5	Gy	30,5 (27,3-34,1)	56,5 (52,8- 60,4)
	16,5	Gy	42,2 (40,4-44,0)	71,6 (67,1- 76,3)
	20,5	Gy	56,3 (53,1-59,6)	82,7 (78,6- 86,9)
8 x	5	Gy	35,8 (33,4-38,4)	61,7 (57,8- 66,0)
	7,5	Gy	52,4 (47,8-57,5)	73,8 (70,2- 77,7)
	10	Gy	70,6 (66,7-74,7)	98,5 (92,1-105,3)

Tab. 6: Wachstumsverzögerung bis zum Erreichen der zwei- bzw. fünffachen Ausgangsgröße für Einzel- und fraktionierte Bestrahlung.

Die graphische Darstellung der Wachstumsverzögerung gegen die Gesamtdosis ergibt die in Abbildung 8 gezeigten Dosis-effektkurven. Bis auf den Wert der Dosisgruppe 2 x 22 Gy, der für den Endpunkt T 200 abweicht, lassen sich dabei alle übrigen Werte gut durch Kurvenzüge wiedergeben.

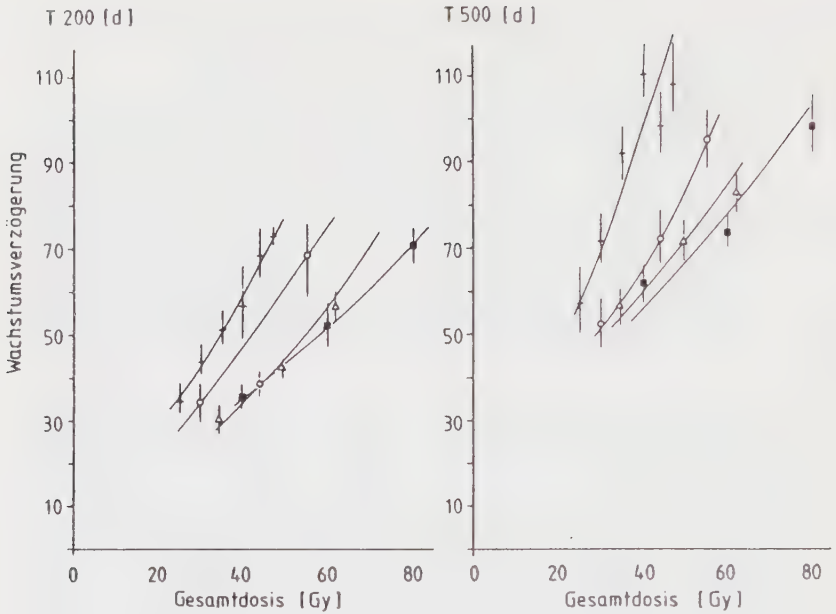


Abb. 8: Wachstumsverzögerung bis zum Erreichen der doppelten (links) bzw. fünffachen (rechts) Ausgangsgröße nach Einzeldosen (+), 2 (o), 3 (▲) und 8 Fraktionen (■).

Die resultierenden Kurven lassen sich prinzipiell als nach oben offene, parabelähnliche Kurven beschreiben. Sie sind mit steigender Fraktionszahl zunehmend nach rechts zu höheren Gesamtdosen hin verschoben und werden gleichzeitig auch immer flacher. Der Fraktionierungseffekt drückt sich also in dieser Auffächerung der Dosiswirkungskurven aus.

Allerdings verringert sich der Abstand der Kurven untereinander mit steigender Fraktionierung (also von links nach rechts), d.h. auf jedem beliebigen Niveau der Wachstumsverzögerung wird das Dosisinkrement zwischen zwei benachbarten Kurven mit größer werdender Fraktionierung immer kleiner.

Insgesamt zeigt die Abhängigkeit isoeffektiver Dosen von der Fraktionszahl die Erholungsfähigkeit eines Teils des Strahlenschadens bei fraktionierter Bestrahlung an.

3.6. Kinetik der Erholung bei fraktionierter Bestrahlung (Versuch E)

Die bisherigen Versuchsanordnungen beschrieben die Abhängigkeit des Effekts bzw. der isoeffektiven Dosis von der Anzahl der Fraktionen oder der Dosis pro Fraktion. Bei eingehaltenen Bestrahlungsintervallen von mindestens 4 Stunden wurde damit von weitgehend kompletter Erholung des überhaupt erholbaren Schadens im Bestrahlungsintervall ausgegangen.

Der vorliegende Abschnitt beschreibt nun den Zeitablauf der Erholung, versucht also durch Variation der Intervalldauer die Kinetik des Erholungsprozesses in situ darzustellen.

Das Versuchsprotokoll basiert auf 3 Fraktionen, die unmittelbar aufeinanderfolgend (= Einzeldosen von 25, 35 und 44 Gy), im Abstand von 45 Minuten (3 x 9,5, 13,5 und 17,5 Gy), im Abstand von 90 Minuten (3 x 11,5, 16 und 20 Gy), oder im Abstand von 4 Stunden (3 x 14, 19 und 23 Gy) gegeben wurden. Die letztgenannte Gruppe wurde erweitert um eine gleich große Versuchsgruppe, die vor der fraktio- nierten Bestrahlung 3 zusätzlichen Ischämieperioden ohne Bestrahlung (ebenfalls 4 Stunden Abstand) unterworfen wur- de.

3.6.1. Wachstumsverhalten

Die beiden Abbildungen 9 und 10 zeigen die gemittelten Wachstumskurven von Tumoren, die unter anoxischen Bedingungen mit Einzeldosen bzw. mit 3 Fraktionen in verschiedenen zeitlichen Abständen bestrahlt wurden.

Die beiden Abbildungen unterstreichen einmal mehr die für den Tumor typischen Merkmale, nämlich eine mäßige Regression auf ca. 80% der Behandlungsgröße, deren Dauer im allgemeinen dosisabhängig ist, sowie im weiteren Verlauf eine deutliche Verlangsamung der Wachstumsrate im Vergleich zur Kontrolle. In einzelnen Dosisgruppen (z.B. 44 Gy) ist die Retardierung überdurchschnittlich, sodaß es zu einer Überkreuzung der Wachstumskurven kommt. Überwiegend ist jedoch eine gleichmäßige Abnahme der Rezidivwachstumsrate mit zunehmender Dosis festzustellen.

Abbildung 11 zeigt nochmals den Wachstumsverlauf für die Gruppen mit 4 Stunden Intervall und stellt ihn dem Verlauf gegenüber, der für gleiche Behandlung, aber mit zusätzlicher dreimaliger Ischämie am Vortag beobachtet wurde. Die Ergebnisse sind widersprüchlich. Auf einem niedrigen Niveau der Wachstumsverzögerung (T_{200}) tritt nach 3 x 14 Gy und 3 x 19 Gy eine erhöhte Latenz (3 bzw. 10 d), nach 3 x 23 Gy jedoch eine erniedrigte Latenz (-8 d) auf. Für T_{500} verstärken sich diese Unterschiede in der niedrigen und hohen Dosisgruppe erheblich, während sie in der mittleren Dosisgruppe gleichbleiben. Ein eindeutiger Einfluß der zusätzlichen Abklemmungsphasen kann damit nicht festgestellt werden, doch ist diese Aussage durch eine große Inhomogenität der Ergebnisse belastet.

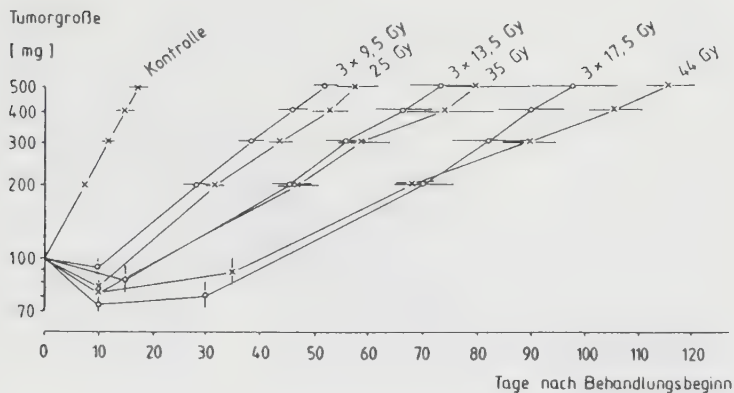


Abb. 9: Mittelwertskurven nach Einzeldosen (x) bzw. 3 Fraktionen im Abstand von 45 Minuten (o).

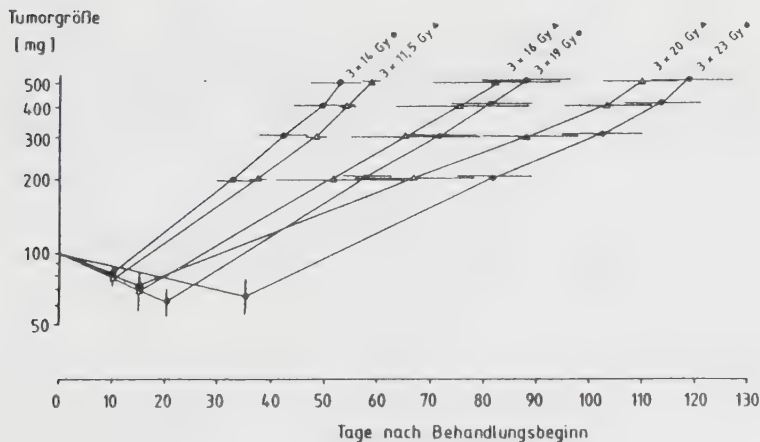


Abb. 10: Mittelwertskurven nach Bestrahlung mit 3 Fraktionen im Abstand von 90 Minuten (Δ) und 4 Stunden (●).

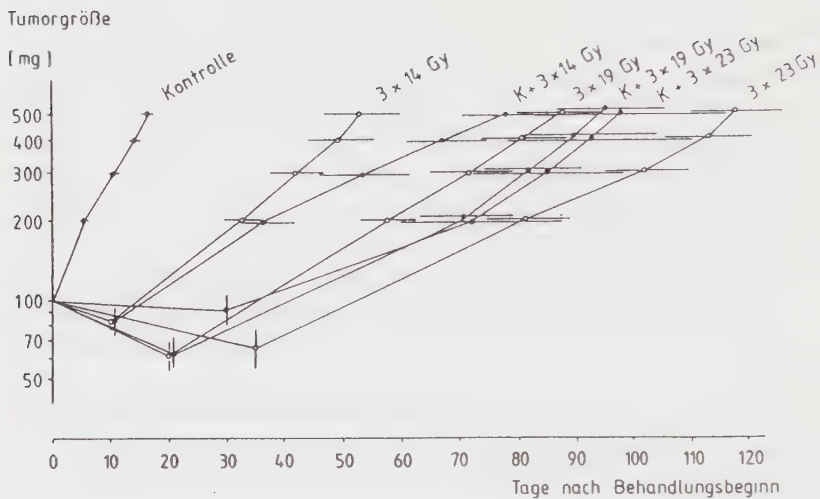


Abb. 11: Mittelwertkurven von Tumoren nach fraktionierter Bestrahlung mit 3 x 14, 19 oder 23 Gy (o), bzw. nach zusätzlichem dreimaligen Abklemmen am Tag vor fraktionierter Bestrahlung (●).

3.6.2. Quantifizierung der Wachstumsverzögerung

Nachfolgend sind für alle Dosisgruppen die Werte der Wachstumsverzögerung zum Erreichen der zwei- bzw. fünffachen Ausgangsgröße aufgeführt.

Bestrahlungs- dosis (anox.)		T 200 $\bar{x}$ ($\pm$ SEM)	T 500 $\bar{x}$ ($\pm$ SEM)
Abstand 0 Minuten (Einzeldosis):			
1 x 0	Gy	7,6 (6,7- 8,6)	17,4 (15,7- 19,3)
25	Gy	31,7 (30,1-33,3)	57,7 (53,7- 62,1)
35	Gy	46,9 (43,1-50,9)	80,0 (71,3- 89,3)
44	Gy	68,4 (65,5-71,5)	116,2 (111,7-120,8)
Abstand 45 Minuten:			
3 x 9,5	Gy	28,5 (26,3-30,9)	52,2 (49,4- 55,1)
13,5	Gy	45,5 (42,3-49,0)	73,5 (67,8- 79,6)
17,5	Gy	70,1 (64,5-76,1)	98,1 (90,3-106,6)
Abstand 90 Minuten :			
3 x 11,5	Gy	37,2 (35,2-39,3)	59,0 (56,9- 61,1)
16	Gy	51,6 (40,6-65,5)	82,0 (69,7- 96,4)
20	Gy	66,2 (55,8-78,4)	110,0 (102,2-118,3)
Abstand 4 Stunden:			
3 x 14	Gy	32,6 (29,4-36,2)	53,2 (47,2- 59,9)
19	Gy	57,7 (53,0-62,9)	88,0 (80,3- 96,3)
23	Gy	81,5 (74,4-89,3)	118,8 (110,6-127,6)
Dreimaliges Abklemmen, danach 3 F im Abstand von 4 h:			
3 x 14	Gy	36,7 (32,1-41,9)	78,7 (70,8- 87,5)
19	Gy	71,1 (63,8-79,4)	96,3 (87,0-106,5)
23	Gy	72,5 (59,9-87,6)	98,8 (83,6-116,7)

Tab. 7: Wachstumsverzögerung (in Tagen) zum Erreichen der doppelten bzw. fünffachen Behandlungsgröße (T 200 bzw. T 500) für Einzeldosen und 3 Fraktionen mit verschiedenen Bestrahlungsintervallen.

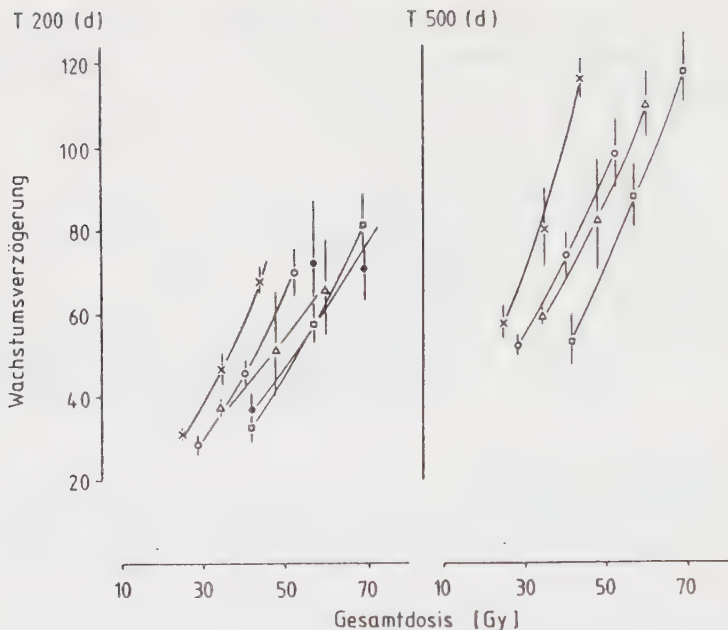


Abb. 12: Wachstumsverzögerung bis zum Erreichen der zweifachen (links) bzw. fünffachen (rechts) Behandlungsgröße nach Einzeldosen (x) und 3 Fraktionen im Abstand von 45 Minuten (o), 90 Minuten (Δ) oder 4 Stunden (□). Im linken Teilbild ist zusätzlich die Dosisgruppe nach dreimaligem Klemmen mit anschließender Bestrahlung bei einem Fraktionsintervall von 4 Stunden (●) dargestellt.

Die graphische Darstellung der Dosiswirkung ergibt das in der Abbildung 12 gezeigte Bild.

Alle Kurven zeichnen sich wieder durch einen nach oben offenen konkaven Verlauf mit stetig zunehmender Steigung aus. Dabei dokumentiert die Kurve für Einzeldosen, die sozusagen 3 Fraktionen mit dem Intervall 0 entspricht, die

größte Wirkung. Umgekehrt nimmt der Effekt für Bestrahlung in 3 Fraktionen mit wachsendem Fraktionierungsintervall immer mehr ab.

Während beim gewählten Endpunkt T 500 sämtliche Linien annähernd parallel laufen und somit keine Überkreuzungen auftreten, schneidet bei T 200 die Dosiseffektkurve mit dem Intervall 90 Minuten diejenigen mit den Intervallen 45 Minuten und 4 Stunden.

Die beim niedrigeren Endpoint (linkes Teilbild) darüberhinaus eingefügte Kurve von zusätzlich geklemmten Tumoren nimmt etwa denselben Verlauf wie die der vergleichbaren nur bestrahlten Dosisgruppen.

4. DISKUSSION

4.1. Biologische Grundlagen der Fraktionierung

Änderungen der geweblichen Strahlenempfindlichkeit durch Aufteilung und Protrahierung der Dosis sind bereits seit den Anfängen der Strahlentherapie bekannt (33). Nahezu ebenso alt sind Versuche, sie zu einer Erhöhung der Selektivität in der Therapie maligner Tumoren zu nutzen. Eine gesicherte biologische Basis hat sich indes erst in den letzten 30 Jahren erschlossen, in denen als entscheidende Strahlenwirkung die Zerstörung der reproduktiven Integrität der Zelle definiert und quantifiziert wurde (32). Damit konnten auch die unter fraktionierter Bestrahlung im Gewebe ablaufenden Empfindlichkeitsveränderungen zellulär interpretiert werden. Sie wurden 1975 von Withers (59) in ein heute noch weitgehend gültiges Konzept gefaßt, das allgemein unter der Kurzbezeichnung die "4 R's der fraktionierten Strahlentherapie" bekannt ist. Im einzelnen sind damit gemeint Reparatur des subletalen Strahlenschadens, Reoxygenierung, Redistribution und Regeneration (52).

Unter der Repopulierung oder Regeneration versteht man die Proliferation überlebender Zellen während der Behandlungsintervalle. Dabei hängt das Ausmaß der Zellvermehrung von verschiedenen Faktoren ab, so von der Dosis pro Fraktion und vor allem von der Behandlungszeit und der Proliferationsbereitschaft der Zellen. Von daher ist es verständlich, daß Regeneration vor allem in akut reagierenden Normalgeweben mit hoher Zellumsatzrate (Haut, Schleimhaut des Gastrointestinaltrakts und der Mundhöhle) ein wesentlicher Faktor der Toleranzerhöhung ist, während die sog. chronischen Strahlenschäden durch sie nicht vermeidbar sind (15, 23, 58, 61). Erst in letzter Zeit zeichnet sich ab, daß auch in Tumoren, beispielsweise Plattenepithelkarzinomen, selbst bei normaler Behandlungsdauer, Repopulierung zur Strahlenresistenz wesentlich beitragen kann (26, 30, 31).

Reoxygenierung ist ein tumorspezifisches Phänomen. Es geht davon aus, daß nur in Tumoren aufgrund der unzureichenden Gefäßversorgung Zellen auftreten, die zumindest vorübergehend unter sehr niedriger Sauerstoffspannung existieren (49). Wegen ihrer besonderen Strahlenresistenz würden sie im Heilungsexperiment extreme, nicht tolerable Strahldosen provozieren(28). Wie sich aber gezeigt hat, kommt es unter fraktionierter Bestrahlung zu einer Verbesserung der Sauerstoffversorgung, sodaß vorher hypoxische Zellen zum Zeitpunkt der nächsten Strahlenapplikation in einen euoxischen Zustand übergeführt und damit strahlensensibler werden (21, 49).

Überlebende Zellen nach einer Strahlenbehandlung werden unter Berücksichtigung unterschiedlicher Strahlenempfindlichkeit der einzelnen Zellphasen im Zellzyklus zunächst in den relativ strahlenunempfindlichen Zyklusphasen zu finden sein, so zum Beispiel in der späten S - und in der frühen G₁- Phase (59, 62). Nach einiger Zeit verteilen sich die Zellen aber wieder auf die verschiedenen Zyklusphasen (i.e. Redistribution), was besonders für schnell proliferierende Gewebe zutrifft, sodaß die Population überlebender Zellen zum Zeitpunkt der nächsten Bestrahlung wieder die ursprüngliche Strahlenempfindlichkeit aufweist.

Unter den üblichen therapeutischen Bedingungen stellt die Erholung vom subletalen Strahlenschaden wohl den wichtigsten Faktor dar. Sie beschreibt die Tatsache, daß bei einer Aufteilung der Strahlendosis die überlebenden Zellen aufgrund intrazellulärer Reparaturvorgänge vor jeder Fraktion zu ihrer ursprünglichen Strahlenempfindlichkeit zurückkehren.

Aufgrund dieser sog. Elkind-Erholung (14) erfährt die gewebliche Strahlenresistenz eine erhebliche gewebsspezifische Zunahme.

Eine der aktuellen Aufgaben der experimentellen Strahlenbiologie besteht darin, verschiedene Normalgewebe und Tumoren in ihrer Erholungsfähigkeit zu charakterisieren.

Die vorliegende Arbeit soll solche Daten für ein differenziertes Mammarkarzinom der Maus liefern. Die selektive Untersuchung der Erholungsfähigkeit erfordert, daß andere Komponenten des Zeitfaktors nicht störend in Erscheinung treten. Hierzu dient die Bestrahlung in Ischämie, mit der die Strahlenempfindlichkeit im Tumor vereinheitlicht wird, sodaß man den Einfluß der Reoxygenierung vernachlässigen kann. Der Einfluß der Repopulierung wird dadurch eliminiert, daß die Gesamtbehandlungszeit so kurz gehalten wird, daß zwar intrazelluläre Erholung, aber keine nennenswerte Proliferation ermöglicht wird. Redistribution kann prinzipiell nicht ausgeschlossen werden, dürfte aber von untergeordneter Bedeutung sein.

4.2. Kritische Betrachtung der Tumorwachstumsverzögerung als Maß der zellulären Strahlenwirkung

Untersuchungen an etablierten Zellkulturen in vitro können Einblicke in die grundsätzliche Dosisabhängigkeit der strahlenbedingten Inaktivierung von Zellen und in die formalen Prinzipien des Fraktionierungseffektes geben, aber keine verbindlichen Daten über die entsprechenden Parameter von Zellen in vivo liefern. Gerade bezüglich der Erholungsfähigkeit hat sich gezeigt, daß zwischen verschiedenen Normalgeweben Unterschiede bestehen, die sich aus der Zellkultur nicht ableiten lassen. Relevante Messungen müssen daher am Gewebe in vivo durchgeführt werden. Gleiches gilt auch für die Charakterisierung der Erholungsfähigkeit bzw. der Erholungskinetik von Tumoren.

Prinzipiell kann hierbei der Weg beschritten werden, daß die Tumorzellpopulation in vivo behandelt wird und die Überlebensrate der Zellen durch nachfolgende Exzision und Austestung der Koloniebildungsfähigkeit in vitro (55) oder in vivo (18, 19) gemessen wird. Dieser Ansatz hängt davon ab, ob eine genügend hohe Angehrate der Zellen (sog. plating efficiency) besteht (8). Dies ist im allgemeinen nur bei Tumoren der Fall, die an das Wachstum in vitro adaptiert sind; erfahrungsgemäß sind dies am ehesten anaplastische, schnell wachsende Tumoren. Die Methode hat zudem den Nachteil, daß sie bei zeitlich protrahierter Behandlung aufgrund der Ausbildung von geweblichen Veränderungen anfällig ist für Artefakte. Sie ist ferner grundsätzlich limitiert durch einen vergleichsweise niedrigen verwendbaren Dosisbereich.

Rückschlüsse auf die zelluläre Strahlenwirkung lassen sich jedoch auch aus der Tumorreaktion in situ ableiten. Als gut standardisierter Assay mit einem großen nutzbaren Dosisbereich hat sich hierbei der sog. regrowth delay assay (10, 48) bewährt. Er basiert auf der Bestimmung der sog. Tumorstillstandsdauer, also der dosisabhängigen Latenzzeit des Tumorzidivs. Das Prinzip ist in Abbildung 13 dargestellt.

Diese Graphik zeigt Wachstumskurven eines Tumors nach verschiedenen subkurativen Strahlendosen. Die initiale Volumenreaktion besteht - wie im Tumor AT 55 - in einer mäßig dosisabhängigen Schrumpfung. Aufgrund der anzunehmenden Strahlenwirkung auf das Zellüberleben ist klar, daß die Tumormasse in dieser Phase ganz überwiegend aus inaktivierten Zellen bestehen muß, deren Abräumung längere Zeit in Anspruch nimmt. Aus diesem Grunde sind selbst erhebliche Unterschiede im Überleben clonogener Zellen zunächst nicht sichtbar. Da das Rezidivwachstum aber ausschließlich von den überlebenden Zellen ausgehen muß, drücken sich solche Unterschiede in der Überlebensrate in der Wachs-

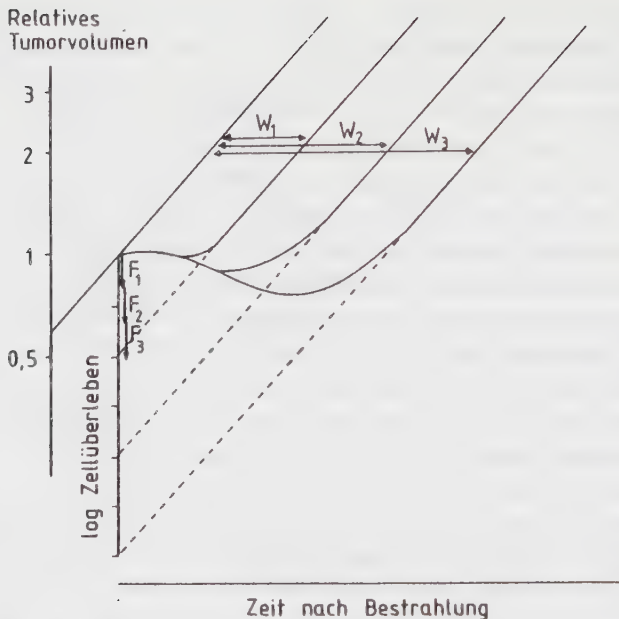


Abb. 13: Wachstumskurven nach verschiedenen subkurativen Einzeldosen (schematisiert). Die Kurve mit der Wachstumsverzögerung W_1 kann auch erhalten werden, wenn die Bestrahlung mit 3 Fraktionen erfolgt, die in ihrer Wirkung auf die zelluläre Überlebensrate äquivalent ist. Rückextrapolationen auf Überlebensraten mit gestrichelten Linien.

tumskurve des Rezidivs dann aus, wenn dieses klinisch faßbar wird. Die abnehmende Überlebensrate projiziert sich dann in Form einer zunehmenden Latenzzeit, die zum Erreichen einer festgelegten Rezidivgröße benötigt wird.

Unabhängig von der Zahl der verabreichten Bestrahlungsfractionen (z.B. Einzeldosis oder 3 Fraktionen) ergibt sich dieselbe Rezidivkurve, wenn die zelluläre Überlebensrate gleich bleibt. Die gleiche Wachstumsverzögerung entspricht also derselben zellulären Überlebensrate. Die durch die Fraktionierung notwendig gewordene Dosiserhöhung drückt also die "erholte Dosis" der Zellen aus.

Die bisherigen Ausführungen gehen jedoch von einer idealisierten Vorstellung aus, indem man für das Rezidivwachstum eine der Kontrolle vergleichbare Wachstumsrate postuliert, was in der Realität jedoch selten zutrifft. Vielmehr weist das Tumorreizidiv häufig auch eine Wachstumsretardierung auf, die z.T. dosisabhängig, aber auch fraktionierungsabhängig ist (5, 20, 53). Diese Retardierung tritt vornehmlich auf, wenn die Rezidivgröße die Behandlungsgröße überschreitet und wird als Tumour Bed Effekt (TBE) bezeichnet. Als Ursache eines solchen TBE ist im wesentlichen der Strahlenschaden an den kleinsten, den Tumor versorgenden Gefäßen anzusehen (7, 17, 20).

Die Rückextrapolation von den Rezidivwachstumskurven auf die Überlebensfraktion würde somit im allgemeinen zu einer groben Überschätzung der tatsächlichen Überlebensraten führen (4). Dies ist im nachfolgenden Schemabild veranschaulicht (Abb. 14).

Die Wachstumsverzögerung stellt demnach kein unmittelbares Maß für die Überlebensrate dar. Folglich können auch keine Zellüberlebenskurven mit dieser Methode gewonnen werden. Sie eignet sich jedoch unter gewissen Bedingungen hervorragend für den Wirkungsvergleich verschiedener Behandlungen, beispielsweise unterschiedlicher Fraktionierungsschemata. Dies gilt besonders dann, wenn die Verlangsamung der Wachstumsrate von der Fraktionierung unabhängig ist; anhand der in Abbildung 6, 7 und 9 gezeigten Wachstumskurven kann demonstriert werden, daß dies für den Tumor AT 55 weitgehend zutrifft.

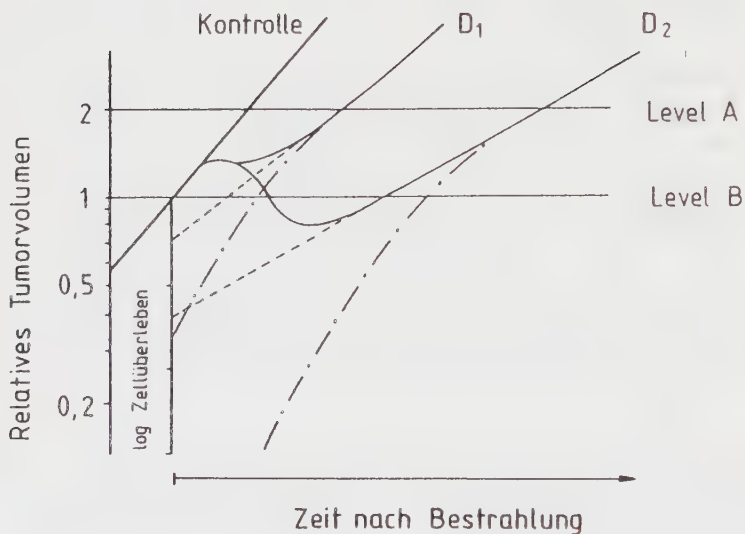


Abb. 14: Wachstumskurven mit verschiedenen Wachstumsverzögerungen (schematisiert) zur Verdeutlichung des Einflusses von Tumour Bed Effect und Wachstumsretardierung auf die Wachstumsraten der Tumorezidive bei verschiedenen Levels. Rückextrapolation aus der Rezidivwachstumskurve (----) kann zu einer erheblichen Überschätzung der tatsächlichen Zellüberlebensrate führen. Die Kurven (—) geben den wahrscheinlichen Wachstumsverlauf der überlebenden Zellen wieder.

4.3. Zelluläre Grundlagen der Split-dose Recovery

Eine ausführliche Darstellung der intrazellulären Erholung (sog. Elkind-Erholung) hat an der zellulären Überlebenskurve anzusetzen. Gemeint ist damit die Dosiswirkungsbeziehung, nach der die unbegrenzte Vermehrungsfähigkeit der clonogenen Zellen dauerhaft zerstört wird (14). Abbildung 15 zeigt schematisch eine solche Überlebenskurve, wie sie durch Bestrahlung mit Einzeldosen bzw. mit einfach fraktionierter Bestrahlung in der Zellkultur typischerweise gefunden wird.

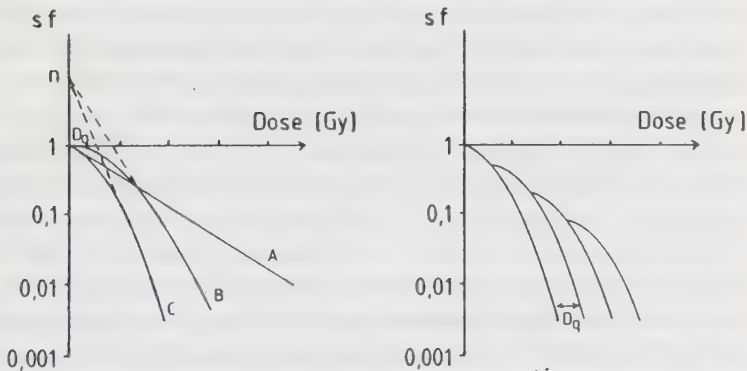


Abb. 15: Dosisabhängigkeit der Zellinaktivierung, sog. Zweikomponenten-Kurve. Kurve A symbolisiert single-hit-killing und hat einen exponentiellen Verlauf, Kurve B entsteht durch Anhäufung sublethaler Schäden und folgt daher dem typischen Verlauf einer Schulterkurve mit horizontalem Beginn und exponentiellem Endteil. Durch Summation aus A und B entsteht die tatsächlich beobachtete Überlebenskurve C (links Einzeit-, rechts fraktionierte Bestrahlung). Parameter dieser Kurven sind die quasi-Schwellendosis D_q und die Extrapolationszahl n (modifiziert nach 62).

Die Form dieser Kurve (Einzeitbestrahlung) wird als sog. exponentielle Schulterkurve beschrieben. Sie beginnt mit einer definierten Neigung, die mit steigender Dosis zunimmt, um schließlich (im halblogarithmischen Maßstab) in eine Gerade überzugehen. Eine biophysikalische Erklärung wird dadurch gegeben, daß auch bei klinischen Dosen durch primär letale Treffer Zellen inaktiviert werden können (quasi-linearer Anfangsteil definierter Neigung), während mit steigenden Dosen zunehmend ein anderer Mechanismus in den Vordergrund tritt (62). Er besteht in der Anhäufung von subletalen Strahlenschäden, die schließlich nur noch einen einzigen (an sich subletalen) Treffer für das Ereignis Zelltod benötigen. Diese Überlebenskurve setzt sich also aus zwei Komponenten zusammen, der initialen exponentiellen Inaktivierungskurve durch Einzeltreffer und einer ebenfalls exponentiell auslaufenden Multitargetkurve. Die Extrapolationszahl n , aus der Rückextrapolation des zweiten Teiles der Überlebenskurve gewonnen, bzw. die quasi-Schwellendosis D_q definieren die Schulterbreite. Enzymatische Vorgänge ermöglichen es der Zelle, die erlittenen subletalen Treffer bei fraktionierter Bestrahlung im Intervall zu reparieren. Diese Erholungsvorgänge sind in vitro nach Dosen bis ca. 7 Gy innerhalb von drei bis vier Stunden praktisch abgeschlossen (14). Wenn danach eine weitere Strahlendosis verabreicht wird, findet sich, wie in der rechten Abbildung dargestellt (s.o.), als Ausdruck der Erholung vom subletalen Strahlenschaden wieder die Ausbildung der ursprünglichen Schulter in der Überlebenskurve (14). Dieser Vorgang scheint beliebig oft wiederholbar zu sein. Er wird jedoch limitiert durch den exponentiellen Anfangsteil der Kurve. Bei hinreichend kleinen Dosen pro Fraktion, also solchen, die vor dem Einsetzen der Schulterkrümmung liegen, sättigt sich daher der Fraktionierungseffekt (54).

4.4. Erholte Dosis pro Fraktion und fractional recovery

Analog zum rechten Teil der Abbildung 15 werden die erholten Dosen aus den Dosiseffektkurven der Abbildung 9 errechnet, indem man von den Kurven der fraktioniert bestrahlten Tumoren aus auf die entsprechenden isoeffektiven Dosen der einzeitbestrahlten Tumoren (D_1) zurückgreift und aus der Differenz beider Werte die gesamte erholte Dosis ($D_n - D_1$) erhält. Da die zugrunde liegenden Dosis-effektkurven vom Endpunkt abhängen, werden nachfolgend die Werte der Wachstumsverzögerung zum Erreichen der zwei- bzw. fünffachen Behandlungsgröße (T200 bzw. T500) gegenübergestellt.

Aus dem Vergleich der Isoeffektdosis für Einzeitbestrahlung und Bestrahlung mit n Fraktionen berechnet sich daraus die erholte Dosis pro Intervall als $(D_n - D_1)/(n-1)$. Die erholte Dosis pro Intervall kann ferner zur gegebenen Dosis pro Fraktion in Beziehung gesetzt und daraus der erholte Dosisanteil (fractional recovery, F_R) gebildet werden. Diese Darstellung geht im wesentlichen auf Denekamp und Stewart (9) zurück.

Eine graphische Auftragung dieser Ergebnisse für die beiden Endpoints T200 und T500 ist nachfolgend in Abb. 16 dargestellt. Strenggenommen kann die Ableitung der erholten Dosis von der Dosis pro Fraktion nur für einen definierten Effektlevel (Niveau der Wachstumsverzögerung) vorgenommen werden. Für eine definierte Wachstumsverzögerung kann daher jeder Fraktionierung nur ein Dosispaar (erholte Dosis und Dosis pro Fraktion) zugeordnet werden. Um die Darstellung zu erweitern, wurden im vorliegenden Fall jedoch die realen Dosen pro Fraktion verwendet und die Kurve an alle Werte angepaßt.

	D_n/n	D_1	D_n	D_n-D_1	$D_n-D_1/n-1$	F_R (%)	$\bar{F}_R$ (%)
<u>T200:</u>							
2 F	15	25	30	5	5	33	
2 F	22	27	44	17	17	77	50
2 F	27,5	44	55	11	11	40	
3 F	11,5	22	34,5	12,5	6,25	54	
3 F	16,5	29,5	49,5	20	10	60	57
3 F	20,5	38	61,5	23,5	11,75	57	
8 F	5	25,5	40	14,5	2,1	42	
8 F	7,5	35	60	25	3,6	48	47
8 F	10	45	80	35	5	50	
<u>T500:</u>							
2 F	15	19,5	30	10,5	10,5	70	
2 F	22	31,5	44	12,5	12,5	57	59
2 F	27,5	41,5	55	13,5	13,5	49	
3 F	11,5	23,5	34,5	11	5,5	48	
3 F	16,5	31,5	49,5	18	9	55	55
3 F	20,5	36,5	61,5	25	12,5	61	
8 F	5	26	40	14	2	40	
8 F	7,5	32	60	28	4	53	49
8 F	10	42,5	80	37,5	5,4	53	

Tab. 8: Aus den Dosiswirkungskurven (Abb. 9) für zwei- und fünffache Behandlungsgröße errechnete Werte für isoeffektive Einzeldosen (D_1) und erholte Dosis pro Intervall ($D_n-D_1/n-1$). F_R ist die erholte Dosis pro Intervall in Prozent der Dosis pro Fraktion.

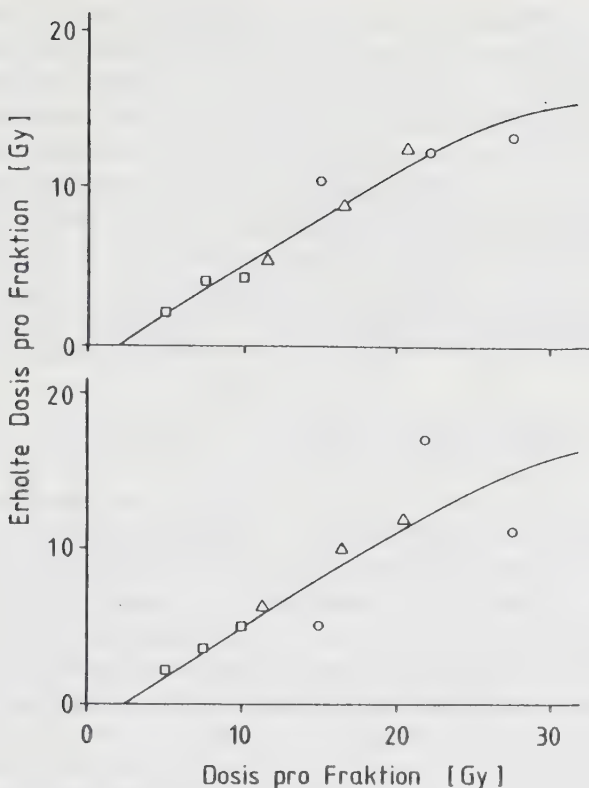


Abb. 16: Erholte Dosis pro Intervall gegen die Dosis pro Fraktion für Bestrahlung mit zwei (o), drei (Δ) und acht (□) Fraktionen für zwei- (unten) bzw. fünffache (oben) Behandlungsgröße.

Es zeigt sich, daß der Tumor im Bereich kleinerer Dosen pro Fraktion naturgemäß weniger Dosis im Fraktionierungsintervall erholen kann als bei höheren Dosen. Wählt man die Fraktionsdosis kleiner als etwa 3,5 Gy, läßt sich gegenüber einer entsprechend kleinen Einzeldosis überhaupt keine Erholung mehr darstellen. Die maximal erholbare Dosis pro Fraktion strebt hingegen einem Grenzwert zu. Diese vom Modell vorausgesagte Sättigung bei hoher Dosis pro Fraktion, die der D_q entspricht, würde im vorliegenden Fall bei ca. 15 Gy liegen.

Bei sehr kleinen Dosen pro Fraktion kommt es zu einer Sättigung des Fraktionierungseffektes, sodaß mit einer Verminderung der Fraktionsdosis unter 3,5 Gy (hypoxisch) keine meßbare Resistenzerhöhung des Tumors mehr zu erwarten ist. In der Terminologie des gewählten Modells würde diese Dosis der sog. "flexure dose" entsprechen (54, 62). Der Verlauf bei höheren Dosen pro Fraktion zeigt eine erhebliche Streuung der Erholungswerte, jedoch für den Mittelwert des erhaltenen Dosisanteils ($\bar{F}_R$) die erwartete Zunahme mit der gegebenen Dosis pro Fraktion (Tabelle 8).

4.5. Linear-quadratisches Modell und Fraktionierungseffekt

Ausgehend von mikrodosimetrischen Überlegungen wurde von Kellerer und Rossi (22) für ionisierende Strahlung eine sog. duale Strahlenwirkung postuliert. Danach führt die Deposition der Strahlenenergie vor allem von locker ionisierender Strahlung sowohl zu primär-letalen Treffern als auch zu subletalen Läsionen, die sich zu letalen kombinieren, wenn sie zeitlich und räumlich eng genug beieinander liegen.

Primär-letale und subletale Ereignisse müssen linear mit der Dosis zunehmen, während die Häufigkeit der Interaktion subletaler Ereignisse dem Dosisquadrat proportional ist (3). Die Überlebensrate folgt der Gleichung

$$sf = e^{-(ad + Bd^2)}, \quad (1)$$

bzw.

$$-\ln sf = ad + Bd^2; \quad (2)$$

Für fraktionierte Bestrahlung mit gleichbleibender Dosis (d) pro Fraktion und n Fraktionen gilt dann

$$-\ln sf = n (ad + Bd^2); \quad (2)$$

Diese Beziehung definiert soweit noch eine Überlebenskurve von Zellen, doch kann diese Betrachtung auch auf komplexe Strahlenwirkungen ausgedehnt werden. Es gilt nämlich, daß einem gegebenen Gewebseffekt, z.B. einer definierten Wachstumsverzögerung, gleich durch welche Fraktionierung der Effekt erreicht wird, eine konstante - wenn auch unbekannte - Überlebensrate zuzuordnen ist. Dieser Ansatz führt zur Ableitung einer Isoeffektgleichung aus der Gleichung 2. Man ersetzt hierzu den Term $-\ln sf$ durch einen Effekt E , der der Überlebensrate einfach proportional sein soll, und faßt $n \cdot d$ als D_n zusammen. Hieraus ergibt sich die Isoeffektformel:

$$E = D_n a + D_n b d; \quad (3)$$

$$E/D_n = a + b d;$$

$$1/D_n = a/E + (b/E)d; \quad (4)$$

Diese Abhängigkeit der reziproken Gesamtdosis von der Dosis pro Fraktion stellt die linear-quadratische Isoeffektformel dar. Sie entspricht graphisch einer Geraden mit dem Interzept a/E und der Steigung b/E , hat also den Vorteil, linearisiert zu sein. Da E jedoch unbekannt ist, läßt sich nur der Quotient a/b ableiten.

Für die folgende Tabelle sind für verschiedene Niveaus der Wachstumsverzögerung, also für 3 Levels von E , aus der Abbildung 9 (T200) die zugeordneten Gesamtdosen, ihr Reziprokwert und die Dosis pro Fraktion abgegriffen. Die entsprechenden Regressionsgeraden wurden für diese Datensets berechnet und mit den Dosispunkten in Abb. 17 eingezeichnet. Wie sich zeigen läßt, entspricht a/b dem Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der Abszisse und kann somit direkt abgelesen werden (27).

	Einzel-dosis	2 F	3 F	8 F
Wachstumsverzögerung 55 Tage				
D_n (Gy)	37,5	46,0	58,5	64,0
$1/D_n$ (1/Gy)	0,0267	0,0217	0,0171	0,0156
d/F (Gy)	37,5	23,0	19,5	8,0

Wachstumsverzögerung 65 Tage

D_n (Gy)	42,5	55,0	70,5	74,5
$1/D_n$ (1/Gy)	0,0235	0,0182	0,0143	0,0134
d/F (Gy)	42,5	27,5	23,3	9,3

Wachstumsverzögerung 75 Tage

D_n (Gy)	47,5	60,0	72,5	83,5
$1/D_n$ (1/Gy)	0,0211	0,0167	0,0138	0,0120
d/F (Gy)	47,5	30,0	24,2	10,4

Tab. 9: Dosiswerte für die Berechnung des Quotienten a/β der linear-quadratischen Dosiswirkungsbeziehung, abgegriffen aus Abb. 9 für 55, 65 und 75 Tage Wachstumsverzögerung.

Die berechneten a/β -Werte sind 29, 30 und 34 Gy; der Mittelwert liegt bei 31 Gy.

Um die allgemeine Bedeutung der Größe a/β zu erläutern, muß zunächst noch einmal die Gleichung 2 erwähnt werden. Die darin definierte Überlebenskurve setzt sich aus einer linearen und einer quadratischen Komponente zusammen.

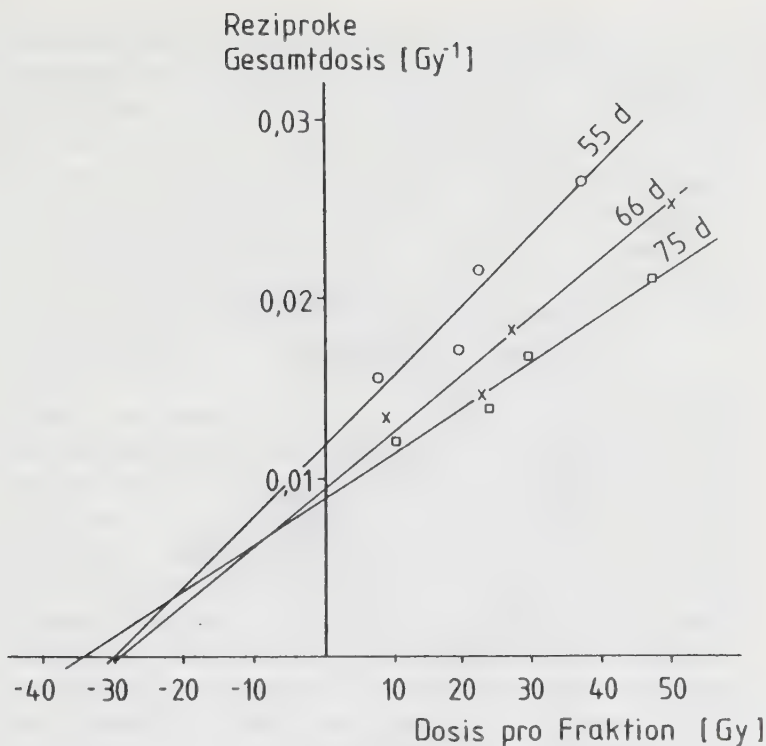


Abb. 17: Reziproke Gesamtdosis gegen die Dosis pro Fraktion bei drei verschiedenen Niveaus der Wachstumsverzögerung (55, 65 und 75 Tage).

Diese Größe stellt daher einen Formparameter der Überlebenskurve dar. Ein hoher Quotient (d.h. $a \gg b$) bedeutet einen relativ hohen Anteil primär letaler Schäden, was einem gestreckten Anfangsteil der Überlebenskurve entspricht. Ist a/b relativ klein, werden dagegen bereits bei kleinen Dosen die Schäden aus der Interaktion subletaler Ereignisse bedeutsam, was sich in einer relativ starken Krümmung der Kurve bereits bei niedrigen Dosen niederschlägt.

So gibt die Differenzierung der Gleichung 2 an, daß sich bei der Dosis a/B die initiale Steigung der Überlebenskurve ($=a$) verdreifacht hat:

$$(-\ln sf)' = a + \beta d; \quad \text{für } d = a/B \text{ wird hieraus}$$

$$(-\ln sf)' = a + 2a = 3a;$$

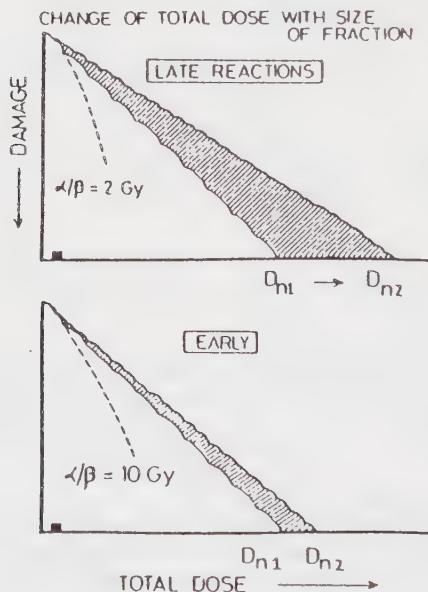


Abb. 18: Schemabild zur Verdeutlichung des Fraktionierungseffektes für verschiedene Quotienten a/B . Bei kleinem a/B , wie es für Spätschäden von Normalgeweben typisch ist, resultiert eine wesentlich höhere Toleranzsteigerung, wenn die Zahl der Fraktionen erhöht wird (entnommen aus J.F. Fowler, 15).

Die Konsequenzen für die Toleranzerhöhung sind in Abb. 18 dargestellt. Da bei Fraktionierung jeweils Anfangsteile der Dosiswirkungskurve aneinandergereiht werden, folgt unmittelbar, daß die effektive Neigung einer fraktionierten Überlebenskurve umso stärker von der Einzeldosiskurve abweicht, je kleiner der Quotient a/B ist. Im gleichen Sinn wirkt sich eine Zurücknahme der Dosis pro Fraktion (gleichbedeutend mit einer Erhöhung der Fraktionszahl) aus. Ein großes a/B ist also gleichbedeutend mit einem kleinen Fraktionierungseffekt und umgekehrt.

Anhand experimentell gewonnener a/B - Werte für verschiedene Gewebseffekte kann also in präziser Form die Bedeutung der Fraktionierung für die Toleranz (bzw. Resistenz) verglichen werden. Dies soll zunächst für verschiedene Transplantattumoren geschehen.

Eine ausführliche Zusammenstellung aller bis 1985 in der Literatur bekannten Fraktionierungsexperimente an Nager-tumoren und ihre Analyse nach dem linear-quadratischen Modell wurde von Williams et al. (57) gegeben. Die verwendeten Untersuchungsmethoden schließen vor allem Tumorheilung (TCD 50) und Wachstumsverzögerung (GD) ein. Da bei Fraktionierungsexperimenten kritisch auf evtl. stattfindende Reoxygenierung geachtet werden muß, bezieht sich die überwiegende Mehrzahl der Daten auf Experimente, die unter anoxischen Bedingungen bzw. unter Verwendung der sauerstoffmimetischen Substanz (hypoxic sensitizer) Misonidazol durchgeführt wurden. Um einen quantitativen Vergleich mit euoxischen Werten zu ermöglichen, muß der hypoxische a/B - Wert durch den Sauerstoffverstärkungsfaktor (OER) dividiert werden.

Die nachfolgende Tabelle gibt eine Aufstellung solcher unter hypoxischen Bedingungen gewonnenen a/B - Werte, die auf euoxische Verhältnisse unter Verwendung eines konventionellen OER von 2,7 normiert wurden (57). Als Mittelwert ergibt sich hier ein a/B von 13,3 Gy. Für zwei auf die

Nacktmaus transplantierte menschliche Plattenepithelkarzinome wurden Werte im Bereich 7-16 Gy gemessen, doch waren die Fraktionierungsprotokolle für die exakte Festlegung nicht ausführlich genug (25).

Tumor	Assay	a/β (Gy)	Ref.
C3H mammary carcinoma	TCD 50	15,3	(40)
C3H mammary carcinoma	TCD 50	9,9	(41)
C3H mammary carcinoma	TCD 50	18,8	(42)
DBA mammary carcinoma	TCD 50	9,0	(43)
Slow Sarcoma S	GD	19,3	\$
Squamous cell carcinoma	TCD 50	12,1	(44)
Mammary carcinoma N.T.	GD	15,5	\$
Mammary carcinoma N.T.	GD	9,1	\$
Mammary carcinoma AT 17	GD	<u>11,1</u>	(16)
		13,3	

Tab. 10: a/β-Werte für Transplantattumoren der Maus. Die Daten entstammen Experimenten mit hypoxischen Bestrahlungsbedingungen und sind durch einen OER von 2.7 dividiert (modifiziert nach Williams et al., 54). \$: Unveröffentlichte Daten des Gray Laboratory, Northwood, England.

Der für den Tumor AT 55 unter hypoxischen Bedingungen ermittelte a/β-Wert von 31 Gy normiert sich entsprechend auf $31/2,7 = 11,5$ Gy. Seine Erholungsfähigkeit liegt demnach durchaus im Rahmen der bisherigen experimentellen Erfahrungen.

Von größter klinischer Bedeutung ist letztlich der Vergleich zwischen Tumoren und Normalgeweben, weil dieser über die potentiell erreichbare therapeutische Breite entscheidet. In den letzten Jahren wurden Experimente an zahlreichen Normalgeweben im Tiermodell durchgeführt, die sowohl für chronische als auch für akute Strahlenschäden den Fraktionierungseffekt beschreiben (1, 12, 23, 38, 39, 46, 51, 65). Akute Effekte sind solche, die bereits innerhalb der üblichen klinischen Behandlungszeit von einhalb Monaten auftreten. Sie betreffen ausschließlich proliferative Erneuerungsgewebe, sog. Mäusergewebe, wie das Epithel der oralen Mukosa und des Gastrointestinaltraktes, das Samenepithel, die Epidermis oder das Knochenmark. Die Endpunkte der Strahlenwirkung sind häufig phänomenologische oder funktionelle Gewebseffekte (z.B. feuchte Hautreaktion), teilweise aber auch echte Überlebenskurven, die durch sog. Koloniebildungsverfahren in vivo erarbeitet wurden (50, 60, 63, 65).

Chronische Strahlenschäden stellen wegen ihrer Progredienz und Irreversibilität das eigentliche Problem der Strahlentherapie dar. Sie bestehen in schwerwiegenden Funktionsstörungen, z.B. Paraplegie, Niereninsuffizienz, Herzinsuffizienz, Lungenfibrose usw.. Auf sie richtet sich das Bemühen, durch Fraktionierung die therapeutische Breite der Strahlenbehandlung zu erhöhen. Kriterium der Strahlenwirkung ist hier meist ein relativ komplexer Gewebseffekt bzw. ein definierter funktioneller Ausfall (23, 37, 51, 58)

Das wesentliche Ergebnis dieser Studien zeigt die folgende Tabelle 11, in der der Fraktionierungseffekt wieder durch den ermittelten α/β -Wert ausgedrückt ist.

<u>Akute Effekte:</u>		a/β-Wert	Ref.
Akute Hautreaktion	(Maus)	8 - 14	(12)
Kryptenregeneration, Jejunum	(Maus)	6 - 11	(46)
Kryptenregeneration, Colon	(Maus)	8 - 9	(65)
Tubulusregeneration, Hoden	(Maus)	12 - 13	(64)

Chronische Effekte:

Paraplegie des Rückenmarks	(Ratte)	1 - 5	(23)
Nierenfunktionseinschränkung	(Maus)	1 - 3,5	(39)
Pneumonitis und Lungenfibrose	(Maus)	2 - 6,3	(51)
Miktionsstörung und Blasenkapazität	(Maus)	3,5 - 7	(38)

Tab. 11: a/β-Werte für akute und chronische Strahlenschäden, modifiziert nach J.F.Fowler (15).

Aus dieser Aufstellung wird deutlich, daß akute und chronische Schäden sich in ihrem Fraktionierungsverhalten trotz gewisser Überlappungen unterscheiden lassen. Akute Schäden sind durch a/β-Werte zwischen 8 und 14 Gy gekennzeichnet, während chronische Schäden im Mittel deutlich niedrigere Werte aufweisen. Die für Tumoren bestimmten Werte liegen ähnlich oder höher als die Werte akut reagierender Gewebe.

Diese Befunde bilden eine solide Basis für die Optimierung der fraktionierten Strahlentherapie (13, 47, 61). Eine Erniedrigung der pro Einzelsitzung verabreichten Dosis unter 2 Gy sollte demnach zu einer weiteren Toleranzerhöhung für chronische Effekte führen, während sie kaum noch zu einer Resistenzsteigerung für Tumoren beiträgt. Dieser Weg der Selektivitätserhöhung wird mit der sog. Hyperfraktionierung klinisch bereits beschritten (6).

4.6. Kinetik der Erholung

Bei den bisher beschriebenen Überlegungen wurde stets von einer komplett ablaufenden Erholung subletaler Strahlenschäden im Fraktionierungsintervall ausgegangen. Diese ist jedoch als zeitabhängiger Vorgang anzusehen. Das Substrat dürften nach derzeitigen Vorstellungen enzymatische Reparaturvorgänge von DNA-Läsionen darstellen (11). Für Zellen in vitro ist nachgewiesen, daß die nach Erstdosis von ca. 7 Gy (in Luft) ablaufende Erholung nach etwa 3 Stunden praktisch abgeschlossen ist (14). Daten über die Reparaturgeschwindigkeit in vivo werden zur Zeit intensiv erarbeitet. Es gibt Hinweise darauf, daß dieser Ablauf gewebespezifisch ist und möglicherweise für Strahlenschäden deutlich langsamer als für Tumoren ist (1, 2, 16, 35, 45).

Zur groben Orientierung über den Reparaturablauf im Tumor AT 55 kann zunächst die in Abb. 19 gezeigte Graphik dienen. Sie beschreibt die Abnahme der Tumorstillstand (Wachstumsverzögerung), wenn das Bestrahlungsintervall zwischen 3 Fraktionen von 15 Gy von 0 auf 4 Stunden verlängert wird. Die entsprechenden Werte sind der Abb. 12 entnommen.

Die Kurve strebt einem Endwert von ca. 35 Tagen zu, der die Strahlenwirkung bei annähernd voller Erholung repräsentiert. Die Hälfte der insgesamt erholbaren Wirkung wird bei einem Intervall von etwa 1 Stunde erreicht.

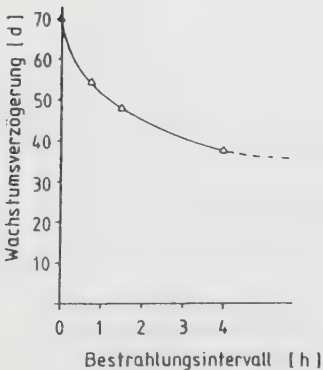


Abb. 19: Abnahme der Wachstumsverzögerung im Tumor AT 55 in Abhängigkeit vom Intervall zwischen 3 Fraktionen von 15 Gy. Die Werte sind der Abb. 12 entnommen.

Eine korrekte Ermittlung der Halbwertszeit ist damit aber nicht möglich. Ein Grund dafür ist, daß die Wachstumsverzögerung dem Logarithmus der Überlebensrate nicht direkt proportional ist und die Halbwertszeit somit nicht über den Zerfall der Wirkung gemessen werden kann. Die korrekte Ableitung verläuft, wie kürzlich von Thames (45) gezeigt, über die Darstellung der "erholten" bzw. "erinnerten" Dosis.

Diese Ableitung geht zunächst von einem von Oliver (29) sowie von Roesch (34) formulierten Modell¹ aus.

Abb. 20 soll dies verdeutlichen. Die Überlebenskurve nach Einzeldosis wird hier durch die mit SD bezeichnete Kurve beschrieben. Für 2 Fraktionen der Größe d resultieren bei voller Erholung 2 Teilkurven, die dem Anfangsteil der SD-Kurve entsprechen.

Verkürzt man nun die Zeit zwischen erster und zweiter Fraktion derart, daß nur eine inkomplette Erholung des subletalen Strahlenschadens ablaufen kann, liegt diese Kurve zwischen den beiden oben genannten. Ursache ist ein

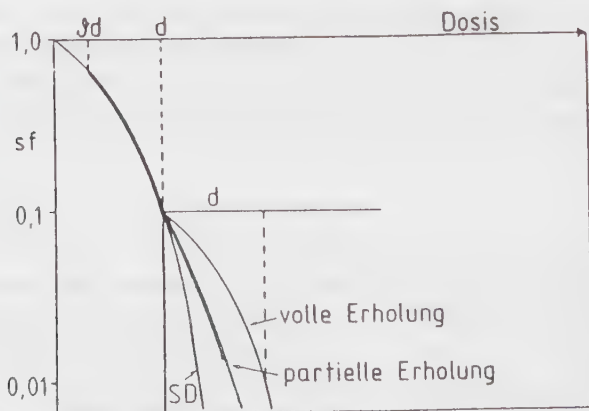


Abb. 20: Überlebenskurven nach Einzeiltradio und Bestrahlung mit einem Fraktionsintervall, das volle bzw. inkomplette Erholung erlaubt.

Residualschaden (subletaler Strahlenschaden), der mit der 2. Fraktion interagiert und sich formal als "erinnerte" Restdosis Θd behandeln läßt. Da das Modell eine Kinetik erster Ordnung vorsieht (exponentieller Zerfall der erinnerten Dosis), gilt

$$\Theta = e^{-\lambda t} ,$$

wobei $\lambda = \ln 2 / T_{1/2}$ ($T_{1/2}$ = Halbwertszeit und t = Dauer des Bestrahlungsintervalls).

Für fraktionierte Bestrahlung mit mehr als 2 Fraktionen ergibt sich eine erinnerte Restdosis von Θd für die 2. Fraktion, von $\Theta d + \Theta^2 d$ für die 3. Fraktion usw. Für das linearquadratische Modell der Dosiseffektbeziehung berechnet sich daraus nach Thames (45) eine Wirkung nach n Fraktionen von

$$-\ln sf = n (a d + b d^2 (h(\Theta))) ; \quad (5)$$

wobei $h(\Theta) = (2/n)(\Theta/(1-\Theta))(n-(1-\Theta^n)/(1-\Theta))$;

Wie zu erwarten, wird der Parameter Θ der Kinetik nur für den interaktiven quadratischen Dosisterm wirksam.

Als Grenzfall ergibt sich für $t = 0$ die Überlebensrate nach Einzeldosis ($\Theta = 1$)

$$-\ln sf = a n d + b n^2 d^2 ;$$

und für $t \rightarrow \infty$ die Dosiswirkungsbeziehung für komplette Erholung ($\Theta = 0$)

$$-\ln sf = a n d + b n d^2 ;$$

Eine Analyse der eigenen Daten setzt wieder an einem Vergleich isoeffektiver Dosen in Abhängigkeit vom Intervall t an. Nachdem isoeffektive Dosen alle einer gleichen (wenn auch nicht bestimmbaren) Überlebensrate entsprechen, kann aus Gleichung 5 ein Gleichungssystem mit den Unbekannten a, b und $T_{1/2}$ aufgestellt werden. Dazu wurde aus Abbildung 13 bei 60, 80 und 95 Tagen Wachstumsverzögerung die isoeffektive Dosis abgelesen. Unter Zugrundelegung von $a/b = 31$ Gy ergab die nichtlineare Regression durch Minimierung der Fehlerquadrate eine Halbwertszeit von 33 Minuten mit einem 95%-Konfidenz-Intervall von 25 bis 50 Minuten. Die Halbwertszeit ist im übrigen für den eingesetzten a/b - Wert kaum anfällig. So ergibt sich z.B. für ein a/b von 23 Gy eine Halbwertszeit von 34 Minuten.

Alle benutzten Rechenprogramme entstammen dem Statistikpaket SAS und wurden vom Institut für Medizinische Informatik und Systemforschung der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung zur Verfügung gestellt.

Die ermittelte Halbwertszeit von 33 Minuten besagt, daß von einer gegebenen Dosis d nach 4 Stunden nur noch 0,4% erinnert werden. Dies kommt bei Berücksichtigung der experimentellen Auflösung des Systems praktisch voller Erholung gleich. Untersuchungen an einem anderen Transplantattumor aus dem gleichen Labor, dem Mammakarzinom AT 17, ergaben eine vergleichbare Halbwertszeit von 40 Minuten (16). Vorläufige Daten von weiteren Experimentaltumoren zeigen etwas höhere Werte (35).

Die praktische Bedeutung der Erholungsgeschwindigkeit liegt in der klinischen Anwendung der Hyperfraktionierung, wobei für mehrfach tägliche Bestrahlung die Intervalle häufig 4 Stunden nicht überschreiten. Nachdem neuere Untersuchungen andeuten, daß Normalgewebe möglicherweise längere Halbwertszeiten als Tumoren aufweisen, kann sich damit eine unerwünschte Kumulation der Strahlenwirkung

verbinden. Diese Gegebenheiten sind zu berücksichtigen, wenn der mit der Hyperfraktionierung angestrebte Effekt einer selektiven Toleranzerhöhung in kritischen Normalgeweben durch inkomplette Erholung nicht gefährdet werden soll.

5. ZUSAMMENFASSUNG

An einem vermutlich radiogenen differenzierten Mammakarzinom wurden in den ersten Tierpassagen Wachstumsverhalten, Transplantabilität, sowie vor allem die Erholung vom subletalen Strahlenschaden bei fraktionierter Röntgenbestrahlung in situ untersucht.

Die Transplantabilität auf dem isogenen Mäusestamm war mit einer Angehrate von fast 90% etwa gleichbleibend. Innerhalb der ersten 10 Tierpassagen zeigte der Tumor eine Abnahme der Latenzzeit von 97 auf 29 Tage und der Volumenverdopplungszeit von 9,2 auf 4,4 Tage. Darüberhinaus wiesen spätere Passagen eine geringere Streuung dieser Parameter, also ein homogeneres Wachstum auf. Ein signifikanter Einfluß von temporärer Ischämie und Narkosemittel auf das Wachstumsverhalten ließ sich ausschließen.

Zur Untersuchung der Erholungsfähigkeit vom subletalen Strahlenschaden wurde der Tumor mit 1 bis 8 Fraktionen subkurativ bestrahlt. Alle Dosen wurden unter lokaler Hypoxie und in kurzer Gesamtbehandlungszeit (maximale Intervalldauer 4 Stunden) gegeben, um den Einfluß ungleicher Reoxygenierung und Repopulierung auf die Strahlenempfindlichkeit auszuschließen. Nach Bestrahlung zeigte das Wachstum des Tumors AT 55 nur mäßige Regression, jedoch eine streng dosisabhängige Zunahme der Rezidivlatenzzeit, sodaß die Strahlenwirkung anhand dieser Wachstumsverzögerung quantifiziert werden konnte. Aus den für die verschiedenen Fraktionierungsschemata daraus abgeleiteten Dosiseffektkurven ließ sich unter Anwendung des linear-quadratischen Modells der Dosis- Wirkungs- Beziehung als Erholungsparameter der sog. α/β -Quotient berechnen, der hier etwa 31 Gy beträgt. Das Erholungsvermögen kann auch dadurch ausgedrückt werden, daß von gegebenen Dosen pro Fraktion im Bereich von 7 bis 27 Gy im Mittel 50% erholt wurden. Der Tumor AT 55 läßt sich somit gut

unter andere Experimentaltumoren einreihen und zeigt ein Fraktionierungsverhalten, das dem akut reagierender Normalgewebe ähnelt, während mit chronischen Schäden antwortendes Normalgewebe in der Regel einen niedrigeren α/β -Wert aufweist.

In einem weiteren Versuch wurde der zeitliche Ablauf der Erholung charakterisiert. Mit ansteigendem Fraktionierungsintervall von 0 über 90 und 120 Minuten bis zu 4 Stunden ergaben sich wieder Dosiseffektkurven der Wachstumsverzögerung, die eine zunehmende Erholung vom subletalen Strahlenschaden ausdrücken. Durch iterative Berechnung konnte hieraus eine Halbwertszeit der Erholung von ca. 30 Minuten ermittelt werden.

Die Bedeutung der Befunde liegt darin, daß die Tumoren offenbar weniger subletalen Strahlenschaden erholen können als spät reagierende Normalgewebe, daß der Erholungsprozeß aber schneller abläuft. Dies hat weitreichende Konsequenzen für die in klinischer Erprobung stehenden unkonventionellen Fraktionierungsprotokolle, bei denen kleine Dosen pro Fraktion (kleiner als 2 Gy) mehrmals täglich eingestrahlt werden sollen.

6. LITERATUR

1. ANG, K.K., FU-XI, Xu, LANDUYT, W., VAN DER SCHUEREN, E.: The kinetics and capacity of repair of sublethal damage in mouse lip mucosa during fractionated irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 11 (1985) 1977-1983.
2. ANG, K.K., VAN DER KOGEL, A.J., VAN DER SCHUEREN, E.: The kinetics of repair of sublethal damage in the rat cervical spinal cord during fractionated irradiation. *Radiother. Oncol.* 1 (1984) 247-253.
3. BARENDSEN, G.W.: Dose fractionation, dose rate and iso-effect relationships for normal tissue responses. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 8 (1982) 1981-1997.
4. BEGG, A.C.: Analysis of growth delay data: potential pitfalls. *Br. J. Cancer* 41, Suppl. IV (1980) 93-97.
5. BEGG, A.C., TERRY, N.H.A.: Stromal radiosensitivity: influence of tumour type on the tumour bed effect assay. *Br. J. Radiol.* 58 (1985) 93-96.
6. BOGAERT, VAN DEN, W., VAN DER SCHUEREN, E., HORIOT, J.-C., et al.: The feasibility of high-dose multiple daily fractionation and its combination with anoxic cell sensitizers in the treatment of head and neck cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 8 (1982) 1649-1655.
7. CAMPLEJOHN, R.S., PENHALIGON, M.: The tumour bed effect: a cell kinetic and histological investigation of tumours growing in irradiated mouse skin. *Br. J. Radiol.* 58 (1985) 443-451.

8. COURTENAY, V.D.: Primary cultures from tumours. In: Cell Clones - Manual of Mammalian Cell Techniques (eds. C.S. Potten & J.H. Hendry). Churchill Livingstone, Edinburgh (1985) 196-207.
9. DENEKAMP, J., STEWART, F.A.: Evidence for repair capacity in mouse tumors relative to skin. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 5 (1979) 2003-2010.
10. DENEKAMP, J.: Experimental tumor systems: standardization of endpoints. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 5 (1979) 1175-1184.
11. DIKOMEY, E., FRANSKE, J.: Three classes of DNA strand breaks induced by X-irradiation and internal β -rays. Int. J. Radiat. Biol. 50 (1986) 893-908.
12. DOUGLAS, B.G., FOWLER, J.F.: The effect of multiple small doses of X rays on skin reactions in the mouse and a basic interpretation. Rad. Res. 66 (1976) 401-426.
13. DOUGLAS, B.G.: Superfractionation: its rationale and anticipated benefits. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8 (1979) 1143-1153.
14. ELKIND, M.M., SUTTON, H.: Radiation response of mammalian cells grown in culture. I. Repair of X-ray damage in surviving chinese hamster cells. Rad. Res. 13 (1960) 556-593.
15. FOWLER, J.F.: Review: Total doses in fractionated radiotherapy - implications of new radiobiological data. Int. J. Radiat. Biol. 46 (1984) 103-120.
16. GUTTENBERGER, R., KUMMERMEHR, J., NEUNER, M., SCHROPP, K., SUND, M.: Kinetik der Erholung von subletalen Strahlenschäden im Adenokarzinom AT 17. "Experimentelle Tumorthherapie", GSF-Bericht, GSF-B-1964 (1986), 48-52.

17. HEWITT, H.B., BLAKE, E.R.: The growth of transplanted murine tumours in pre-irradiated sites. *Br. J. Cancer* 22 (1968) 808-824.
18. HILL, R.P.: The assay for tumour colonies in the lung. In: *Cell Clones - Manual of Mammalian Cell Techniques* (eds. C.S. Potten & J.H. Hendry). Churchill Livingstone, Edinburgh (1985) 208-214.
19. HILL, R.P.: The TD 50 assay for tumour cells. In: *Cell Clones - Manual of Mammalian Cell Techniques* (eds. C.S. Potten & J.H. Hendry). Churchill Livingstone, Edinburgh (1985) 223-230.
20. HOLLER, E.: Einfluß einer Tumorbettvorbestrahlung auf Wachstum und Proliferationsverhalten des Harding-Passey-Melanoms der Maus. Dissertation, Universität München, 1981.
21. KALLMAN, R.F.: The phenomenon of reoxygenation and its implications for fractionated radiotherapy. *Radiology* 105 (1972) 135-142.
22. KELLERER, A.M., ROSSI, H.H.: The theory of dual radiation action. *Current Topics in Radiation Research Quarterly* 8 (1972) 85-158.
23. KOEGL, VAN DER, A.J.: Radiation tolerance of the rat spinal cord: Time-dose relationships. *Radiology* 122 (1977) 505-509.
24. KROG, H.: Die Wirkung von Adriamycin auf das Fibrosarkom AT 24 und das Adenokarzinom 284 der Maus: Zusammenhang zwischen Zellinaktivierungsrate und makroskopischer Wachstumsverzögerung. Dissertation, Universität München, 1986.

25. LINDENBERGER, J., HERMEKING, H., KUMMERMEHR, J.,
DENEKAMP, J.: Response of human tumour xenografts to
fractionated X-irradiation. *Radiother. Oncol.* 6
(1986) 15-27.
26. MACIEJEWSKI, B., PREUSS-BAYER, G., TROTT, K.R.: The
influence of the number of fractions and of overall
treatment time on local control and late complication
rate in squamous cell carcinoma of the larynx. *Int.*
J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 9 (1983) 321-328.
27. MICHAEL, B.D.: A simple graphical determination of
 α/β from reciprocal dose plots. *Int. J. Radiat. Biol.*
47 (1985) 119-120.
28. MUNRO, T.R.: The relation between tumour lethal doses
and the radiosensitivity of tumour cells. *Br. J.*
Radiol. 34 (1961) 246-251.
29. OLIVER, R.: A comparison of the effects of acute and
protracted gamma-radiation on the growth of seedlings
of *vicia faba*. II. Theoretical calculations. *Int. J.*
Radiat. Biol. 8 (1964) 475-488.
30. PARSONS, J.T., BOVA, F.J., MILLION, R.R.: A re-evalu-
ation of split-course technique for squamous cell
carcinoma of the head and neck. *Int. J. Radiat.*
Oncol. Biol. Phys. 6 (1980) 1645-1652.
31. PARSONS, J.T., CASSISI, N.J., MILLION, R.R.: Results
of twice-a-day irradiation of squamous cell carcino-
mas of the head and neck. *Int. J. Radiat. Oncol.*
Biol. Phys. 10 (1984) 2041-2051.
32. PUCK, T.T., MARCUS, P.I.: Action of X-rays on mamma-
lian cells. *J. Experm. Med.* 103 (1956) 653-659.

33. REGAUD, C., FERROUX, R.: Über den Einfluß des Zeitfaktors auf die Sterilisation des normalen und des neoplastischen Zellwachstums durch Radiotherapie. Strahlentherapie 31 (1929) 495-508.
34. ROESCH, W.C.: Models of the radiation sensitivity of mammalian cells. In: Third Symposium on Neutron Dosimetry in Biology and Medicine (eds. G. Burger & H.G. Ebert). Commission of the European Communities. (1978) 1-27.
35. ROJAS, A., JOINER, M.C., NINIS, J., JOHNS, H.: The influence of dose per fraction on the repair kinetics of tumours and normal tissues in mice. 6th Annual Meeting, ESTRO, Lisboa, 1987, Book of Abstracts, p. 12.
36. STEEL, G.G.: Growth Kinetics of Tumours. Cell population kinetics in relation to the growth and treatment of cancer. Clarendon Press, Oxford (1977).
37. STEWART, F.A., MICHAEL, B.D., DENEKAMP, J.: Late radiation damage in the mouse bladder as measured by increased urination frequency. Rad. Res. 75 (1978) 649-659.
38. STEWART, F.A., RANDHAWA, V.S., MICHAEL, B.D.: Multi-fraction irradiation of mouse bladders. Radiother. Oncol. 2 (1984) 131-140.
39. STEWART, F.A., SORANSON, J.A., ALPEN, E.L., WILLIAMS, M.V., DENEKAMP, J.: Radiation-induced renal damage: The effects of hyperfractionation. Rad. Res. 98 (1984) 407-420.
40. SUIT, H.D., WETTE, R.: Radiation dose fractionation and tumor control probability. Rad. Res. 29 (1966) 267-281.

41. SUIT, H.D., MAEDA, M.: Hyperbaric oxygen and radiobiology of a C3H mouse mammary carcinoma. J. Natl. Cancer Inst. 39 (1967) 639-652.
42. SUIT, H.D., HOWES, A.E., HUNTER, N.: Dependence of response of a C3H mammary carcinoma to fractionated irradiation on fraction number and intertreatment interval. Rad. Res. 72 (1977) 440-454.
43. SUIT, H.D., LINDBERG, R., SUCHATO, C., OZENIC, A.: Radiation dose fractionation and high pressure oxygen in radiotherapy of the DBA mouse mammary carcinoma. Radiology 99 (1967) 895-899.
44. SUIT, H.D., SUCHATO, C.: Hyperbaric oxygen and radiotherapy of a fibrosarcoma and a squamous cell carcinoma of C3H mice. Radiology 89 (1967) 713-719.
45. THAMES, H.D.: An "incomplete-repair" model for survival after fractionated and continuous irradiations. Int. J. Radiat. Biol. 47 (1985) 319-339.
46. THAMES, H.D., WITHERS, H.R., MASON, K.A., REID, B.O.: Dose survival characteristics of mouse jejunal crypt cells. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 7 (1981) 1591-1597.
47. THAMES, H.D.Jr., WITHERS, H.R., PETERS, L.J., FLETCHER, M.D.: Changes in early and late radiation responses with altered dose fractionation: implications for dose-survival relationships. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8 (1982) 219-226.
48. THOMLINSON, R.H., CRADDOCK, E.A.: The gross response of an experimental tumour to single doses of X-rays, Br. J. Cancer 21 (1967) 108-123.

49. THOMLINSON, R.H.: Changes of oxygenation in tumours in relation to irradiation. *Frontiers Radiat. Ther. Oncol.* 3, (1968), 109-121.
50. TILL, J.E., McCULLOCH, E.A.: A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Rad. Res.* 14 (1961) 213-222.
51. TRAVIS, E.L., PARKINS, L.S., DOWN, J.D., FOWLER, J.F., THAMES, H.D.: Repair in mouse lung between small doses of X-rays. *Rad. Res.* 94 (1983) 326-340.
52. TROTT, K.-R.: Experimental results and clinical implications of the four R's in fractionated radiotherapy. *Radiat. Environm. Biophys.* 20 (1982) 159-170.
53. TROTT, K.-R., KUMMERMEHR, J.: Split dose recovery of a mouse tumour and its stroma during fractionated irradiation. *Br. J. Radiol.* 55 (1982) 841-846.
54. TUCKER, S.L., THAMES, H.D.: Flexure dose: the low-dose limit of effective fractionation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 9 (1983) 1373-1383.
55. TWENTYMAN, P.R., BROWN, J.M., GRAY, J.W., FRANKO, A.J., SCOLES, M.A., KALLMAN, R.F.: A new mouse tumor model system (RIF-1) for comparison of end-point studies. *J. Natl. Cancer Inst.* 64 (1980) 595-604.
56. WIEDMANN, R.: Die Wirkung von Cyclophosphamid auf das Fibrosarkom SSK 31 der Maus. Dissertation, Universität München, 1982.
57. WILLIAMS, M.V., DENEKAMP, J., FOWLER, J.F.: A review of a/B ratios for experimental tumors: implications for clinical studies of altered fractionation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 11 (1985) 87-96.

58. WILLIAMS, M.V., DENEKAMP, J.: Radiation induced renal damage in mice: Influence of overall treatment time. *Radiother. Oncol.* 1 (1984) 355-369.
59. WITHERS, H.R.: The 4 R's of Radiotherapy. In: *Advances in Radiation Biology*, Vol. 5 (eds. J.T. Lett & H. Adler). Acad. Press, New York (1975) 241-271.
60. WITHERS, H.R.: Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa exposed to radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 17 (1970) 261-267.
61. WITHERS, H.R., PETERS, L.J., THAMES, H.D., FLETCHER, G.H.: Hyperfractionation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 8 (1982) 1807-1809
62. WITHERS, H.P., PETERS, L.J.: Biologic aspects of radiation therapy. In: *Textbook of Radiotherapy* (ed. G.H. FLETCHER); Lea and Febiger, Philadelphia (1980) 103-180.
63. WITHERS, H.R.: The dose survival relationship for irradiation of epithelial cells of mouse skin. *Br. J. Radiol.* 40 (1967) 187-194.
64. WITHERS, H.R.: Isoeffect curves for various proliferative tissues in experimental animals. In: *Proc. Conf. Time-Dose Relationships in Clinical Radiotherapy*, Madison, 1974 (eds. W.L. Caldwell & D.D. Tolbert). Madison Printing and Publishing Co., Madison (1975) 30-38.
65. WITHERS, H.R., MASON, K.A.: The kinetics of recovery in irradiated colonic mucosa of the mouse. *Cancer* 34 (1974) 896-903.

Lebenslauf

Name: Wolfgang Felix Mayerhausen

Geburtsdatum: 16.02.1960 in Augsburg

Konfession: römisch-katholisch

Staatsangehörigkeit: deutsch

Eltern: Wolfgang Mayerhausen, Ingenieur, und
Erna Mayerhausen, geb. Fuchs,
Lehrerin i.R.

Schulbildung: 1966-1970 Grundschule Gersthofen
1970-1979 Humanistisches Gymnasium
bei St. Stephan in Augsburg
Mai 1979 Abitur

Wehrdienst: 1979-1980 Bundeswehr-Grundwehrdienst

Studium: 1980-1986 Studium der Humanmedizin
an der Ludwig-Maximilians-
Universität München
1986 Studienabschluß mit dem
III. Staatsexamen

Berufstätigkeit: seit 01.02.1987 Assistenzarzt in der
III. Medizinischen Klinik des
Zentralklinikums Augsburg

